

**REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE  
SCIENTIFIQUE**

**UNIVERSITE M'HAMED BOUGARA BOUMERDES**



**FACULTE DES SCIENCES DE L'INGENIEUR**

**DEPARTEMENT DE TECHNOLOGIE ALIMENTAIRE  
LABORATOIRE DE RECHERCHE DE TECHNOLOGIE ALIMENTAIRE**

**MEMOIRE DE MAGISTER**

**Option : Génie Alimentaire**

**Etude des pouvoirs antioxydant et  
antibactérien de quelques espèces végétales  
locales alimentaires et non alimentaires**

**Réalisé par : Mlle ALLANE Taous**

**Devant le jury :**

Mr BELLAL Mohand Mouloud	Professeur INA	Président de jury
Mr KOCEÏR Elhadj-Ahmed	Professeur USTHB	Examineur
Mme AIT KAKI Sabrina	Maître de conférences UMBB	Examineur
Mr SAHMOUNE Mohamed Nasser	Maître de conférences UMBB	Examineur
Mr BENAMARA Salem	Professeur UMBB	Promoteur

**Année universitaire : 2008/2009**

## **Remerciements**

*Ce travail a été réalisé aux laboratoires pédagogiques du Département de Technologie Alimentaire, et laboratoire de Recherche de Technologie Alimentaire de la Faculté des sciences de l'ingénieur de l'université de Boumerdès.*

*Merci à toute ma famille particulièrement ma mère, qui m'ont soutenu et encouragé durant mes études. Ils ont partagé avec moi des moments de joie, mais aussi les moments difficiles. Je leur suis profondément reconnaissante.*

*Je tiens également à remercier tout spécialement :*

*Mr **Benamara S.**, professeur à l'université de Boumerdès (UMBB), pour ses précieux conseils et orientations, pour sa disponibilité, son encouragement et pour tout l'intérêt qu'il a accordé à ce travail.*

*Mr **Ballel M.M.**, professeur à l'INA, pour l'honneur qu'il m'a fait en président mon jury.*

*Mr **Koceir E.A.**, professeur à USTHB ;*

*Mme **Ait Kaki S.**, maître de conférences à l'université de Boumerdès (UMBB) ;*

*Mr **Sahmoune M.N.**, maître de conférences à l'université de Boumerdès (UMBB) ;*

***Pour m'avoir honoré en acceptant d'examiner ce travail.***

*Mme **Amellal H.**, Maître de conférences à l'université de Boumerdès UMBB ;*

*Mlle **Helladj F.**, Chargée de cours à l'université de Boumerdès (UMBB) ;*

*Mr **Nouani A.**, chef du Département de Technologie Alimentaire ;*

*Tous les enseignants (es) et laborantins (es) du DTA ;*

*pour leur aide.*

*Je n'oublierais pas non plus de remercier Mr Djouab et tous les étudiants de la post graduation « Technologie Alimentaire ».*

*A la mémoire de mon père*

## ملخص:

قمنا بدراسة 57 نوع نباتي محلي: 28 فاكهة ( منها 22 مألوفة و 6 برية )، 23 خضر (منها 1 بري: نبات شوكي) و 6 أعشاب طبية. درست أجزاء كل نبات لوحدها. النشاط المضاد للأكسدة قيم بقياس استطاعة الإرجاع لـ  $Fe^{2+}$  إلى  $Fe^{3+}$  للمستخلصات السائلة المسماة FRAP. من بين الفواكه، الجزء ( اللب+ القشرة) لنبات القطلب له نشاط مضاد للأكسدة عالي: 2049 مغ فيتامين C (فيتا C) / 100 غ من الكتلة الطازجة (ك.ط) متبوع بالتوت البري. في حالة الخضر، النشاط المضاد للأكسدة لقشرة الفول هو الأكثر أهمية بمقدار 1291,82 مغ (فيتا C) / 100 غ (ك.ط). بالنسبة للأعشاب الطبية، نبات لوند له نشاط مضاد للأكسدة أكبر من كل النباتات الأخرى: 4911 مغ (فيتا C) / 100 غ من الكتلة الجافة (ك.ج). التأثير المشترك لخليط بعض المستخلصات النباتية يبين دائما قيمة أكبر من 1 إلا في حالة الخضر. بالنسبة لهذه الأخيرة، يظهر الفول أنه غني بالمواد المضادة للأكسدة لأنه بالاشتراك مع خضر أخرى التأثير المشترك يصل أحيانا إلى القيمة 2. في هذه الدراسة قمنا بإدراج المفهوم رمز التباين (IH) قد تم تصميمه لأول مرة، هذا ما سمح بالقدرة على القرار بتمائل (تشابه) توزيع المواد المضادة للأكسدة في داخل كل مجموعة مدروسة. و بالتالي، في بعض الحالات، رمز التباين يفوق القيمة 10. بالعكس بالنسبة لفيتامين (C) و للكاروتينويدات، من المهم تبيان وجود ارتباط (علاقة متبادلة) موجبة ( $R^2=0,6$ ) بين استطاعة الإرجاع و المحتوى من متعددة الفينولات لـ 13 نوع نباتي من بين 57 المدروسة. بالنسبة للاستطاعة المضادة للبكتيريا، من بين بعض المستخلصات المدروسة (12) قشرة الرمان و أوراق الريحان الشامي أعطت نتائج مرضية. و في الأخير نشير إلى اقتراح هذا الجزء من هذه الدراسة بالنسبة للفواكه في المجلة «Phytothérapie» الذي نشر في الحجم 8 رقم 5، جوان 2010.

**كلمات دالة:** النشاط المضاد للأكسدة، استطاعة الإرجاع، الفواكه، الخضر، الأعشاب الطبية، النشاط المضاد للبكتيريا، التأثير المشترك، الرمز التباين.

## Résumé

57 espèces végétales locales ont été étudiées : 28 fruits (dont 22 sont communs et 6 sauvages), 23 légumes (dont 1 est sauvage : le chardon) et 6 plantes médicinales. Les différentes parties de chaque végétal ont été analysées séparément. L'activité antioxydante (AA) a été quantifiée en mesurant le pouvoir réducteur du  $Fe^{3+}$  à  $Fe^{2+}$  des extraits aqueux (méthode dite de FRAP : ferric reducing/antioxydant power). Parmi les fruits, la fraction (pulpe+pelure) de l'arbose présente une (AA) la plus élevée : 2049 mg vitamine C (Vit.C)/100g de masse fraîche (m.f). Il est suivi par les mûres sauvages. Dans le cas des légumes, l' (AA) des cosses de fèves est la plus intéressante avec une valeur de 1291,82 mg Vit.C/100g (m.f). Concernant les plantes médicinales, la lavande présente une (AA) la plus élevée : 4911 mg Vit.C/100g masse sèche (m.s). L'effet synergique des mélanges de quelques extraits végétaux montre souvent une valeur supérieure à 1 sauf dans le cas des légumes. Pour ces derniers, les fèves s'avèrent très riches en substances antioxydantes puisque combinées à quelques autres légumes l'effet synergique atteint parfois la valeur de 2. La notion d'indice d'hétérogénéité (IH) a été conçue pour la première fois dans la présente étude ce qui a permis de juger de l'uniformité de distribution des substances antioxydantes à l'intérieur de chaque matrice analysée. Ainsi, dans certains cas, l' (IH) dépasse-t-elle la valeur de 10. Contrairement à la vitamine C et aux caroténoïdes, il importe de noter l'existence d'une corrélation positive ( $R^2 = 0.6$ ) entre le pouvoir réducteur et la teneur en polyphénols de 13 espèces végétales sur les 57 analysées au total. Concernant le pouvoir antibactérien, des 12 extraits analysés la pelure des grenades et les feuilles de myrte ont donné des résultats satisfaisants. Notons enfin que la partie de cette étude concernant les fruits a été soumise sous forme d'article scientifique à la revue « Phytothérapie » qui est publié dans le vol 8 N° 5 juin 2001.

**Mots clés :** activité antioxydante, pouvoir réducteur, fruits, légumes, plantes médicinales, activité antibactérienne, effet synergique, indice d'hétérogénéité.

## **Abstract**

57 local food or not food plant species have been investigated: 28 fruits (among them 22 are common and 6 are wild), 23 vegetables (among them 1 is wild: thistle) and 6 medicinal plants. The different constitutive tissues of each material analysed have been also analysed separately. The antioxidant activity (AA) of aqueous extracts has been quantified by measuring  $\text{Fe}^{3+}$  to  $\text{Fe}^{2+}$  reducing power, procedure named FRAP method (ferric reducing/antioxydant power). Among fruits, the (pulp+peel) fraction of arbutus reveals the greater (AA) value (2049 mg Vitamin C / 100 g wet weight), followed by the wild mulberry. Concerning vegetables, the (AA) value of been pods (1291,82 mg Vitamin C/ 100 g wet weight) is the highest. Regarding medicinal plants, lavender seems to show the most important (AA) value: 4911 mg Vitamin C/ 100 g dry matter. Synergic effect (SE) of the mixture of some aqueous extracts studied present in roughly all cases a value above 1, except vegetables. For the latter, fava beans seem to be rich in antioxidant substances taking into account the improving action on the (SE) (~ 2) when combined with other legumes. In this study, the heterogeneous index (HI) notion was also conceived in view to appreciate the uniformity of the distribution of the antioxidant substances into each matrix investigated. Thus, in certain cases the (HI) values exceed 10. In opposite to vitamin C and carotenoids, the positive correlation ( $R^2 = 0.6$ ) must be noticed between the reducing power and the phenolic content of 13 plant species from the 57 studied. Concerning the antibacterian activity, among 12 aqueous extracts analysed, the peels of grenada as well as the leaves of myrtle showed the satisfactory results. Finally, it must be underlined that, the part of the study related to the fruit was published in the journal of «Phytotherapy» V 8 N° 5 june 2010.

**Key words:** antioxidant activity, reducing power, fruits, vegetables, medicinal plants, antibacterian activity, synergic effect, heterogeneous index.

# Sommaire

<b>Introduction</b> .....	01
---------------------------	----

## **Partie bibliographique**

### **Chapitre I : Fruits, légumes et plantes médicinales**

I.1. Les fruits et légumes .....	03
I.1.1. Impact de la consommation des fruits et légumes sur la santé .....	03
I.1.2. Le régime méditerranéen .....	04
I.1.3. Fruits et légumes communs .....	06
I.1.4. Fruits et légumes sauvages .....	07
I.1.4.1. Figue de Barbarie ( <i>Opuntia ficus-indica</i> ).....	08
I.1.4.2. Arbre à fraises ( <i>Arbutus unedo</i> L.) .....	08
I.1.4.3. Murier sauvage ( <i>Morus nigra</i> L.) .....	08
I.2. Généralités sur les plantes médicinales .....	09
I.2.1. Plantes médicinales et leurs effets bénéfiques sur la santé .....	09
I.2.1.1 Origan .....	09
I.2.1.2 Myrte .....	10

### **Chapitre II : Stress oxydatif**

II. 1. Stress oxydant .....	11
II.2. Radicaux libres .....	11
II.2.1. Espèces réactives de l'oxygène .....	11
II.2.2. Production des radicaux libres.....	12
II.2.2.1. Synthèse d'origine endogène .....	12
II.2.2.2. Origine exogène .....	13
II.3. Cibles des agents oxydants .....	14
II.3.1. Les lipides .....	14
II.3.2. Les protéines .....	15
II.3.3. Les acides désoxyribonucléiques (ADN) .....	15
II.4. Maladies engendrées par le stress oxydant .....	15
II.5. Antioxydants .....	15
II.5. 1. Définition .....	15
II.5. 2. Antioxydants primaires .....	16

II.5. 3. Antioxydants secondaires .....	17
II.5.4. Systèmes antioxydants de défense .....	17
II.5.4.1. Systèmes enzymatiques antioxydant .....	17
II.5.4.2. Antioxydants d'origine alimentaire .....	19
II.5.4.2.1. Acide ascorbique (vitamine C) .....	19
II.5.4.2.2. Les tocophérols (vitamine E) .....	20
II.5.4.2.3. Les caroténoïdes .....	21
II.5.4.2.4. Les polyphénols .....	23
II.5.4.2.5. L'oligo-élément (Le sélénium) .....	26
II.5.4.3 Antioxydatifs de synthèse .....	26

### **Chapitre III : Activité antibactérienne**

III.1. Généralités .....	27
III.2. Définition de l'activité antibactérienne .....	27
III.3. Définition de la CMI (concentration minimale inhibitrice) .....	27
III.4. Principe de l'antibiogramme .....	28
III.5. Méthodes de détermination de l'activité antimicrobienne .....	29
III.5.1. Méthode de la diffusion en disque .....	29
III.5.2. Méthodes de dilutions en bouillon et gélose .....	29
III.6. Le choix de la bactérie.....	30

## **Partie expérimentale**

### **Chapitre IV : Matériels et méthodes**

IV.1. Echantillonnage .....	31
IV.2. Extraction.....	31
IV.3. Mesure de l'activité antioxydante .....	31
IV.4. Indice d'hétérogénéité (IH) .....	32
IV.5. Effet synergique (ES) .....	33
IV.6. Dosage des antioxydants .....	33
IV.6.1. Dosage des polyphénols totaux .....	33
IV.6.2. Dosage de l'acide ascorbique .....	34

IV.6.3. Dosage des caroténoïdes totaux .....	35
IV.7. Activité antibactérienne .....	35
IV.7.1. Matériel végétal .....	35
IV.7.2. Extraction .....	35
IV.7.3. Matériels biologiques .....	35
IV.7.4. dénombrement de la suspension bactérienne .....	36
IV.7.5. Détermination de l'activité antibactérienne .....	36
IV.7.6. Détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) .....	37
IV.8. Analyse statistique .....	38

## **Chapitre V : Résultats et discussions**

V.1. Pouvoir réducteur des 28 fruits étudiés .....	39
V.2. Pouvoir réducteur des 23 légumes étudiés .....	44
V.3. Pouvoir réducteur des 6 plantes étudiées .....	48
V.4. Effet synergique (ES) .....	52
V.4.1. Cas des extraits aqueux de pelures de trois fruits : arbouise, raisins noirs et dattes grenat à noyau .....	52
V.4.2. Cas des extraits aqueux de quelques légumes commun .....	55
V.4.2.1. Combinaison de 3 extraits aqueux .....	55
V.4.2.2. Combinaison de 4 extraits aqueux .....	57
V.4.3. Cas des extraits aqueux de 3 types de feuilles de plantes médicinales: Myrte, Menthe pouliot et Origan .....	61
V-5- Indice d'hétérogénéité (IH) .....	64
V.6. Contribution des polyphénols, de l'acide ascorbique et des caraténoides à l'expression du pouvoir réducteur de 13 espèces végétales sur les 57 étudiées .....	65
V.7. Activité antibactérienne .....	75
V.8. Concentration minimale inhibitrice (CMI) .....	81
<b>Conclusion</b> .....	83

### **Références bibliographiques**

#### **Annexe**

Annexe 1

Annexe 2

## Liste des figures

<b>Figure I.1.</b> La pyramide du régime méditerranéen .....	06
<b>Figure II.1.</b> Structure des formes oxydée et réduite de l'acide ascorbique .....	19
<b>Figure II.2.</b> Mécanisme de régénération potentiel entre l' $\alpha$ -tocophérol ( $\alpha$ -TOH), l'ascorbate (AscO <sup>-</sup> ) et les flavonoïdes (FI) dans les systèmes membranaires .....	20
<b>Figure II.3.</b> Structure des tocophérols .....	20
<b>Figure II.4.</b> Structure des principaux caroténoïdes .....	21
<b>Figure II.5.</b> Structure de quelques acides hydroxybenzoïques .....	23
<b>Figure II.6.</b> Structure de quelques acides hydroxycinnamiques .....	24
<b>Figure II.7.</b> Principales classes de flavonoïdes .....	25
<b>Figure III.1.</b> Schématisation du principe de la mise en œuvre de l'antibiogramme ...	28
<b>Figure V.1.</b> Courbe d'étalonnage de la vitamine C (pouvoir réducteur).....	39
<b>Figure V.2.</b> Evolution du pouvoir réducteur en fonction du temps à 100°C .Cas des feuilles du myrte et de la lavande.....	51
<b>Figure V.3.</b> Pouvoir réducteur des extraits aqueux de peau de fruit .....	54
<b>Figure V.4.</b> Effet synergique des extraits de quelques peaux de fruits .....	54
<b>Figure V.5.</b> Pouvoir réducteur de trois extraits aqueux de légumes (pulpe) .....	56
<b>Figure V.6.</b> Effet synergique de trois extraits aqueux de légumes (pulpe) .....	57
<b>Figure V.7.</b> Pouvoir réducteur de quatre extraits aqueux de légumes : trois pulpes + pelure de fève .....	59
<b>Figure V.8.</b> Effet synergique de quatre extraits aqueux de légumes : trois pulpes + pelure de fève .....	60
<b>Figure V.9.</b> Pouvoir réducteur de trois extraits aqueux de feuilles de plantes médicinales .....	63
<b>Figure V.10.</b> Effet synergique de trois extraits aqueux de feuilles de plantes médicinales .....	63
<b>Figure V.11.</b> Courbe d'étalonnage des polyphénols.....	66
<b>Figure V.12.</b> Teneur en polyphénols des végétaux .....	66
<b>Figure V.13.</b> Corrélation entre les teneurs en polyphénols et le pouvoir réducteur des végétaux .....	67
<b>Figure V.14.</b> Courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique .....	69
<b>Figure V.15.</b> Teneur en acide ascorbique des végétaux .....	69

<b>Figure V.16.</b> Corrélation entre les teneurs en acides ascorbiques et le pouvoir réducteur des végétaux .....	70
<b>Figure V.17.</b> Courbe d'étalonnage des caroténoïdes .....	73
<b>Figure V.18.</b> Teneur en caroténoïdes totaux de quelques végétaux .....	73
<b>Figure V.19.</b> Corrélation entre les teneurs en caroténoïdes et le pouvoir réducteur des végétaux .....	74
<b>Figure V.20.</b> Diamètres des zones d'inhibition des extraits végétaux individuels, de leurs mélanges et du témoin positif obtenus ; souche étudiée : <i>Staphylococcus aureu</i> .....	78
<b>Figure V.21.</b> Photographies des zones d'inhibition des extraits aqueux étudiés sur <i>Staphylococcus aureus</i> .....	80
<b>Figure V.22.</b> Photographie des zones d'inhibition de l'eau distillée et de l'Ampicilline sur <i>Staphylococcus aureus</i> .....	80
<b>Figure V.23.</b> Photographie des différentes concentrations (dilutions) permettant de déduire le CMI. Cas des extraits de la pelure du fruit de grenade .....	82
<b>Figure V.24.</b> Photographie des différentes concentrations (dilutions) permettant de déduire le CMI. Cas des extraits des feuilles de myrte.....	82

## Liste des tableaux

<b>Tableau IV.1.</b> Préparation des dilutions de l'acide gallique pour la réalisation de la courbe d'étalonnage .....	34
<b>Tableau V.1.</b> Activités antioxydantes d'extraits aqueux de fruits communs et sauvages (mg de vitamine C /100g de masse fraîche) .....	40
<b>Tableau V.2.</b> Activités antioxydantes d'extraits aqueux de fruits communs et sauvages (mg de vitamine C /100g de masse fraîche) .....	45
<b>Tableaux V.3.</b> Activités antioxydantes d'extraits aqueux des plantes médicinales (mg de vitamine C /100g de masse sèche) .....	49
<b>Tableau V.4.</b> Evolution du pouvoir réducteur (mg vit C/100g de ms) en fonction du temps à 100°C. Cas du myrte .....	50
<b>Tableau V.5.</b> Evolution du pouvoir réducteur (mg vit C/100g de ms) en fonction du temps à 100°C. Cas de la lavande .....	50
<b>Tableau V.6.</b> Activité antioxydante des mélanges de peau de fruit (valeurs expérimentales) en mg de vitamine C /100g de masse fraîche .....	52
<b>Tableau V.7.</b> Activité antioxydante des mélanges de peau de fruit (valeurs calculées) en mg de vitamine C /100g de masse fraîche .....	53
<b>Tableau V.8.</b> Effet synergique des extraits de peau de fruit (mg de vitamineC /100g de masse fraîche).....	53
<b>Tableau V.9.</b> Activité antioxydante des mélanges de quelques légume (valeurs expérimentales) en mg de vitamine C /100g de masse fraîche .....	55
<b>Tableau V.10.</b> Activité antioxydante des mélanges de légume (valeurs calculées) en mg de vitamine C /100g de masse fraîche .....	55
<b>Tableau V.11.</b> Effet synergique des extraits de légume (pulpe) .....	56
<b>Tableau V.12.</b> Activité antioxydante des mélanges de légume (pulpe) avec pelure de fève (valeurs expérimentales) en mg de vitamine C /100g de masse fraîche .....	58
<b>Tableau V.13.</b> Activité antioxydante des mélanges de légume (pulpe) avec pelure de fève (valeurs calculées) en mg de vitamine C /100g de masse fraîche .....	58
<b>Tableau V.14.</b> Effet synergique des extraits de légume (pulpe) avec pelure de fève ....	59
<b>Tableau V.15.</b> Activité antioxydante des mélanges de feuille de plante (valeurs expérimentales) en mg de vitamine C /100g de masse sèche .....	61

<b>Tableau V.16.</b> Activité antioxydante des mélanges de feuille de plante (valeurs calculées) en mg de vitamine C /100g de masse sèche .....	62
<b>Tableau V.17.</b> Effet synergique des extraits de feuille de plante .....	62
<b>Tableau V.18.</b> Teneur en polyphénols des végétaux en mg/100g de matière fraîche .....	67
<b>Tableau V.19.</b> Teneur en acide ascorbiques des végétaux en mg/100g de matière fraîche .....	70
<b>Tableau V.20.</b> Pourcentage de contribution de l'acide ascorbique au pouvoir réducteur	71
<b>Tableau V.21.</b> Teneur en caroténoïdes des végétaux en mg/100g de matière fraîche.....	74
<b>Tableau V.22.</b> Diamètres des zones d'inhibition des extraits aqueux étudiés avec la souche <i>Staphylococcus aureus</i> .....	77
<b>Tableau V.23.</b> Concentration minimale inhibitrice de la pelure de grenade .....	81
<b>Tableau V.24.</b> Concentration minimale inhibitrice des feuilles de myrte .....	81

# Introduction

Ces dernières années, la consommation des aliments d'origines végétales constitue un enjeu de santé publique. Ce phénomène social est certainement lié à la prise de conscience quant à la relation de cause à effet entre la qualité des aliments et la santé.

En effet, beaucoup d'études épidémiologiques ont démontrée qu'une alimentation riche en aliments d'origine végétale réduit considérablement plusieurs maladies comme les accidents cardiovasculaires et certains types de cancers (**Dauchet et al., 2005**). Les propriétés préventives des aliments d'origine végétale sont dues à la présence de vitamines C, E et A, de caroténoïdes et des composés phénoliques (**Guo et al., 2003**) qui sont des molécules dotées d'un pouvoir antioxydant.

Le phénomène d'oxydation, généré par les radicaux libres, affecte aussi bien l'organisme humain que les différents groupes alimentaires existants (**Rolland et al., 2004**). Dans certaines conditions, il apparaît un déséquilibre dans la balance oxydants/antioxydant provoqué par une production exagérée de radicaux libres ou par diminution des défenses antioxydantes, ce qu'on appelle le stress oxydatif (**Baudin, 2006**). Pour échapper aux graves séquelles de stress oxydant, il y a nécessité de maintenir l'équilibre entre oxydant et antioxydant, afin de préserver les performances physiologiques optimales de l'organisme (**Derbel et Ghedira, 2005**).

A coté des fruits et légumes, les plantes médicinales forment une autre ressource phytogénétique qui ne cesse de susciter l'intérêt de la communauté scientifique. En effet, depuis des temps immémoriaux, les herbes et les épices ont été utilisées non seulement pour leurs pouvoirs aromatisants mais aussi pour leurs propriétés médicinales, antiseptiques et conservatrices lesquelles actions sont gouvernées par leurs constituants antimicrobiens et antioxydants (**Almeida-Doria et Regitano-darcen, 2000**).

Pour lutter contre la dégradation des aliments, les industriels recourent le plus souvent aux antioxydants synthétiques. Les plus utilisés parmi ces derniers sont le butylhydroxyanisole (BHA) et le butylhydroxytoluène (BHT) (**Hinneburg et al., 2006**). Malheureusement, la nocivité de ces conservateurs sur la santé humaine est toujours redoutée dans le cas d'une utilisation chronique (**Martinez-Tome et al., 2001**). C'est pourquoi, les scientifiques investiguent actuellement la possibilité le créneau des conservateurs naturels des aliments, exploitant en cela l'activité antioxydante et antimicrobienne des plantes.

De part sa situation géographique, l'Algérie bénéficie d'une flore très diversifiée par des espèces appartenant à différents éléments géographiques (**Document INRA/FAO, 2006**).

Par ailleurs, nous n'avons relevés que deux travaux consacrés à l'activité antioxydante des espèces de plantes locales : capacité antioxydante et teneur en polyphénols de trois plantes médicinales d'Algérie (**Atmani et al., 2009**) et analyse des composés phénoliques et de l'activité antioxydante de onze plantes médicinales d'Algérie (**Djeridane et al., 2007**).

Dans le présent travail, devant être perçu comme une ébauche à une analyse plus approfondie mais plus ciblée, la méthode du pouvoir réducteur du  $Fe^{+3}$  au  $Fe^{+2}$  est utilisée pour évaluer activité antioxydante (A,A) des extraits aqueux de 57 espèces végétales (englobant fruits, légumes et plantes médicinales) cultivées en Algérie. Les investigations ont concerné les différentes parties constitutives de chaque végétal : pelure, pulpe, tige... A été abordé en outre l'effet synergique pouvant découler du mélange de quelques uns des extraits étudiés, comme a été introduite la notion d'Indice d'Hétérogénéité (IH) qui quantifie l'uniformité du pouvoir antioxydant au sein de chaque matrice analysée. Enfin, l'analyse du pouvoir antibactérien de quelques extraits étudiés a été aussi abordée.

# **Partie**

# **Bibliographique**

# Chapitre I

## Fruits, légumes et plantes médicinales

## **I.1. Les fruits et légumes**

L'organisation mondiale de la santé a sponsorisé le programme promouvant la consommation journalière d'au moins 5 portions de fruits et légumes comme élément essentiel dans une diète santé (**Document IFU, 2005**). Ce qui découle de la prise de conscience par la communauté scientifique et le grand public de l'importance nutritionnelle des fruits et légumes (**Ganry, 2006**).

### **I.1.1. Impact de la consommation des fruits et légumes sur la santé**

On avance trois arguments justifiant l'impact favorable des fruits et légumes sur la santé (**Amiot-Carlin et al., 2007**) :

- 1) une contribution aux apports en micronutriments nécessaires au bon fonctionnement de l'organisme ;
- 2) un effet protecteur des fruits et légumes contre les grandes pathologies chroniques (voir suite) ;
- 3) un contenu énergétique faible ce qui est très favorable pour le traitement et la prévention du surpoids et de l'obésité.

Ces dernières années, la consommation de jus de fruits non pasteurisés, c'est-à-dire issus du pressage direct des fruits entiers lavés, suit une courbe ascendante (**Raybaudi-Massilia et al., 2009**) même si ce type d'utilisation des fruits peut ne pas être sans danger pour les consommateurs. En effet ce type d'abreuvement peut être source d'intoxication alimentaire du fait d'une multitude flore qu'il risque de contenir (**Ceylan et al., 2004**).

Les légumes constituent un groupe de plantes hétérogènes d'un point de vue biologique, mais qui partagent certains modes d'utilisation culinaire et leur mode de consommation varie beaucoup d'une civilisation à une autre (**Chauvet, document INRA**). En particulier les légumes anciens sont plus naturels car ils sont plus proches des légumes sauvages.

Les fruits et les légumes sont riches en fibres alimentaires lesquelles auraient tendance à baisser le taux de cholestérol LDL (**Stone, 2001**). Selon certaines études leur consommation est inversement associée avec l'hyperplasie prostatique bénigne (HPB) (**Lagiou et al., 1999**). **Rohrmann et al. (2007)** ont montré qu'une diète riche en légumes et en  $\beta$ - carotène, en lutéine et en vitamine C provenant des aliments peut réduire la HPB. De leur côté, **New et al. (2000)** ont identifié plusieurs éléments essentiels (potassium, magnésium, fibres, carotène) ainsi que la consommation passée des fruits comme des paramètres déterminants dans la

densité minérale osseuse. **Pavia et al. (2006)**, ayant étudié la relation entre la consommation des fruits et légumes ont conclu que chaque portion de fruit consommée par jour réduit significativement le risque de cancer de bouche de 49%. **Steffen et al. (2003)** ont confirmé l'effet bénéfique d'une ingestion des grains entiers, des fruits et des légumes sur le risque de la mortalité totale et des maladies coronariennes mais pas sur le risque des accidents vasculaires cérébraux. En particulier les caroténoïdes et les autres composants alimentaires dotés d'un pouvoir antioxydant sont aptes à arrêter la progression de la gastrite atrophique à carcinome et un apport en aliments riches en vitamine C et E et en polyphénols peut protéger contre le cancer de l'estomac et inhibe la production des composés N-nitrosés (**Riboli et Norat, 2003**). Par ailleurs, si les effets bénéfiques de la consommation des fruits et légumes sur la santé sont liés aux nutriments antioxydants qu'ils contiennent, leur impact sur le potentiel antioxydant du corps humain reste quelque peu flou. Cet effet protecteur pourrait résulter non seulement des substances antioxydantes des produits végétaux mais aussi de leur action combinée ainsi que d'autres composés moins connus (**Cao et al., 1998**)

### **I.1.2. Le régime méditerranéen**

Puisque l'objectif premier de ce mémoire se résume à une tentative de caractérisation des produits végétaux alimentaires et non alimentaires cultivés dans une sphère géographique méditerranéenne, il nous a paru utile de consacrer un paragraphe au régime dit méditerranéen. Il est bien connu en effet qu'en termes de bien être, celui-ci est devenu par la force des choses une référence à l'échelle planétaire.

Le concept d'habitudes alimentaires méditerranéennes se caractérise surtout par une des meilleures espérance de vie au monde (Qu'est-ce que la diète méditerranéenne ? : <http://michel.delorgeril.info>)

De nombreuses études sont consacrées à ce régime : Productivity and product quality: evidence from agricultural products in South Mediterranean countries (**Belhadj et al., 2007**), Méditerranée : identité et qualité des produits alimentaires méditerranéens (**Hervieu, 2007**), Impact de l'application des normes internationales sur la sécurité alimentaire des populations dans les pays du Sud et de l'Est de la Méditerranée (**Tozanli et al., 2003**), Alimentation méditerranéenne et maladies cardiovasculaires : Analyse des études d'intervention (**Lairon et al., 2006**), International Conference on Health Benefits of Mediterranean Diet: From scientific evidence to health prevention actions (**Document EGEA, 2005**).

Le régime méditerranéen inclut généralement (American Heart Association : <http://www.americanheart.org>) :

1/ une grande consommation de fruits, de légumes, de pain, de pâtes, et de céréales, de pommes de terre, de haricots, et de noix

2/ de l'huile d'olive, source de graisses dites « mono-insaturées »

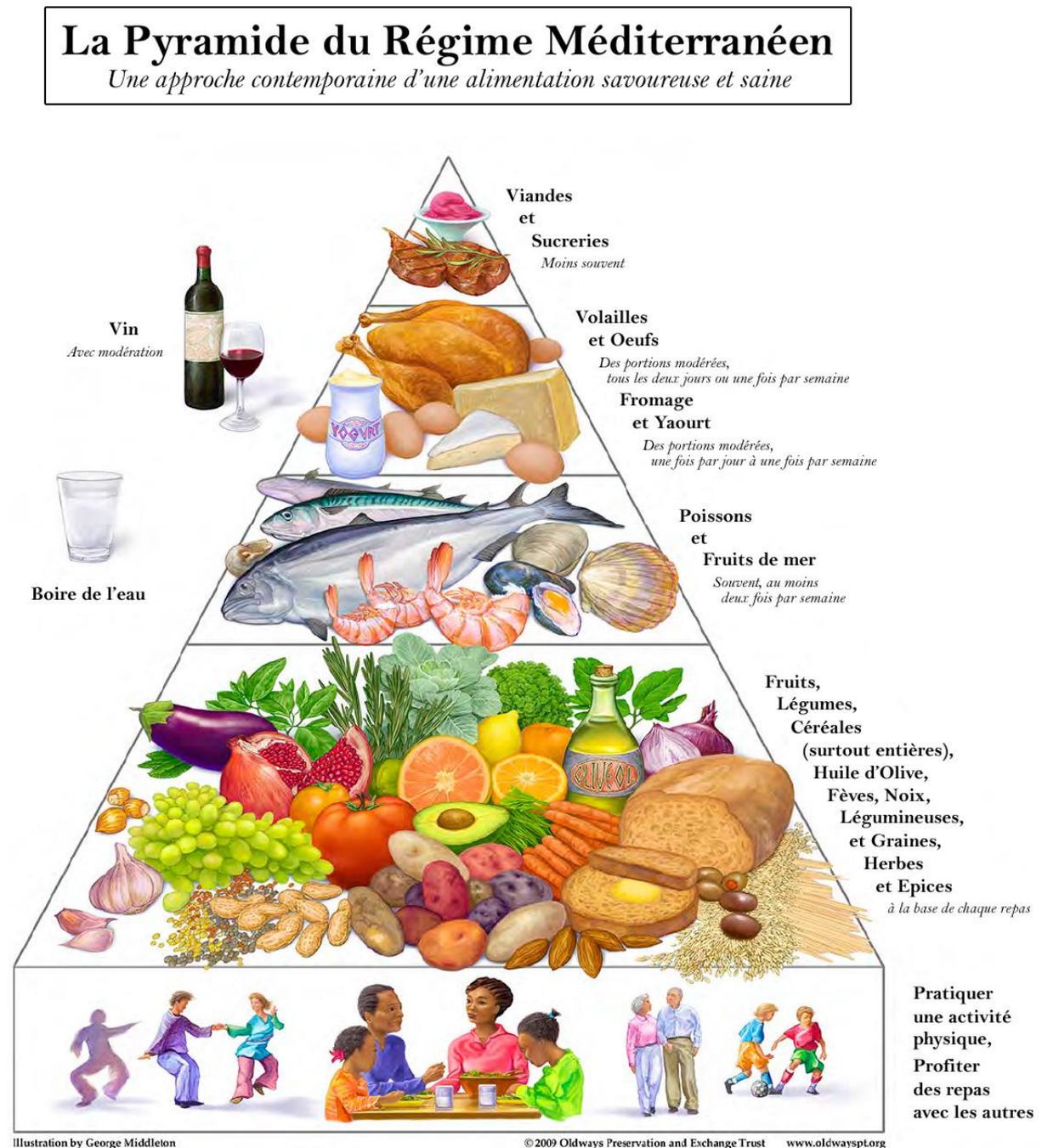
3/ une consommation faible à modérée de produits laitiers, de poissons et de volaille

4/ une faible consommation de viande rouge

5/ des œufs jusqu'à 4 fois par semaine

6/ du vin, en quantité modérée bien évidemment

Voici résumé sous forme de pyramide le régime méditerranéen (<http://www.regime-mediterraneen.fr>)



**Figure I.1.** La pyramide du régime méditerranéen (<http://www.regime-mediterraneen.fr>).

Comme il est aisé de le voir, les végétaux forment la composante dominante dans le régime méditerranéen.

### I.1.3. Fruits et légumes communs

Parmi les légumes on distingue (Document de l'Institut de la Qualité de l'Aliment :

<http://iqa.vendee.fr>) :

- les légumes racines (carotte)

- les légumes tige (asperge, bette)
- légumes bulbes ou gousse (poireau, ail, oignon)
- les courges et cucurbitacées (citrouille, courgette)
- les légumes feuilles (salade, choux)
- les légumes fleurs (chou-fleur, brocoli)
- les légumes fruits (tomate, poivron)
- les champignons
- les algues (légumes de la mer)

En diététique, on distingue en outre la famille des féculents qui englobe : les légumes tubercules (les pommes de terre) et les légumes secs (pois, haricots secs).

Les fruits sont répertoriés dans les catégories suivantes :

- Fruits aqueux : 95 % des fruits
- Fruits riches en amidon : châtaignes, marrons
- Fruits oléagineux et graines oléagineuses (riches en matières grasses) : avocat, olive, amande, noix
- Fruits secs ou séchés : dattes, figes, abricots, bananes, prunes...

Du point de vue nutritionnel les fruits et les légumes apportent :

- de vitamines, notamment de la vitamine C (agrumes, kiwi, fruits rouges, poivron, épinard, chou fleur...), de vitamine B9 (les légumes feuilles : salades, épinards, choux...)
- de minéraux comme le potassium (légumes feuilles), le sodium (céleri rave, fenouil, pissenlit), le calcium (persil, brocoli, chou vert, orange, kiwi, fruits rouges...)
- d'oligo-éléments comme le cuivre, le sélénium...
- de composés antioxydants
- des fibres

#### **I.1.4. Fruits et légumes sauvages**

Même s'il n'y a pas de travaux consacrés à la consommation des fruits et légumes sauvages en Algérie, des études ont toutefois relevé l'intérêt nutritionnel de ces espèces chez les populations rurales des pays tropicaux (**Ambé, 2001**).

Nous présentons ici quelques données de la littérature relatives aux fruits sauvages étudiés dans le présent travail, tenant compte du rôle qu'ils peuvent jouer pour leur apport à une alimentation équilibrée d'une part et à l'activité économique d'autre part. Surtout que ces

fruits recèlent un potentiel de substances bioactives d'importance capitale pour la santé humaine (**Dillard et German, 2000**).

#### **I.1.4.1. Figue de Barbarie (*Opuntia ficus-indica*)**

Le figuier de Barbarie (famille des *Cactaceae*) est une plante cultivée dans les pays chauds, arides et semi-arides incluant la Tunisie, l'Algérie, l'Afrique du Sud, l'Italie, le Brésil, l'Argentine, le Chili et le Mexique (**Le Houérou, 1996**). Il est adapté aux hautes températures et au déficit d'eau.

Le cactus (figue de Barbarie) est une des rares sources naturelles de bétalaines, pigments mais aussi phytonutriments bioactifs, colorés en jaune, pouvant ainsi constituer une alternative aux colorants de synthèse ; sa consommation tel quel est en plus bénéfique pour la santé humaine grâce à ses fonctions antioxydantes (**Stintzing et Carle, 2004 ; Tesoriere et al., 2008**). Ces fruits sont nutritionnellement importants. Ils sont aussi riches en vitamine C, en polyphénols, en sucres simples et en sels minéraux (**Maataoui et Hilali, 2004**). **Stintzing et al. (2002)** ont révélé la présence dans ce fruit un profilé betalaine encore beaucoup plus complexe que ce qui est rapporté habituellement. **Nebbache et al. (2009)** ont étudié la composition chimique des figues de Barbarie d'Algérie et ont relevé particulièrement la richesse de leur pulpe en potassium (199mg/100g) mais ils n'ont pas étudié leur pouvoir antioxydant.

Notons enfin l'existence d'une norme visant les variétés commerciales du fruit livré à l'état frais au consommateur (**CODEX STAN 186-1993, AMD. 1-2005**). Cette norme ne concerne pas toutefois les figues de Barbarie destinées à la transformation industrielle.

#### **I.1.4.2. Arbre à fraises (*Arbutus unedo* L.)**

L'arbre à fraise (famille des *Ericaceae*) est une espèce typique du pourtour méditerranéen même si aujourd'hui on le retrouve au Proche-Orient et en Transcaucasie (**Seidemann, 1995**). Les fruits sont surtout riches en vitamine C avec une teneur de plus de 300mg/100g de matière sèche (**Alarcao-E-Silva et al., 2001**).

#### **I.1.4.3. Murier sauvage (*Morus nigra* L.)**

Les mures noires forment l'espèce la plus importante dans la région méditerranéenne (**Tutin, 1996**). Etudiant les mures de Turquie, **Ercisli et Orhan (2008)** ont trouvé que ces fruits sont riches en polyphénols 1943 et 2237 mg équivalents d'acide gallique/100 g de

masse fraîche mais le sont loin en vitamine C (14.9 et 18.7 mg/100 ml) et présentent une activité antioxydante (méthode de décoloration du  $\beta$ -carotène) assez modérée (63-76%).

## **I.2. Généralités sur les plantes médicinales**

Pour améliorer encore plus la pratique de la médecine moderne, les chercheurs se tournent de plus en plus vers la médecine traditionnelle comme source de nouveaux médicaments (**Haslam et al., 1989**).

En plus des propriétés antioxydantes déjà évoquées plus haut, les plantes médicinales sont aussi recherchées pour leurs activités antimicrobiennes. Le développement par la flore pathogène d'une résistance à la plupart des antibiotiques, combiné aux effets secondaires pouvant résulter de la prise de ces derniers rend impératif la recherche de nouveaux agents antimicrobiens (**Ali-Shtayeh et al., 1998**).

Il est connu que les plantes d'Afrique devraient contenir plus de substances chemo-préventives que celles de l'hémisphère nord (**Atawodi, 2005**).

Plusieurs travaux sont consacrés à l'étude des plantes médicinales d'Algérie mais nous n'avons pas trouvé de travaux consacrés aux espèces analysés dans cette étude : Composition Chimique et activité antioxydante des huiles essentielles obtenues à partir de *Origanum glandulosum* Desf d'Algérie (**Ruberto et al., 2002**) ; Activités antioxydantes des extraits alcal de deux espèces algériennes de *Fumaria* : *Fumaria capreolata* et *Fumaria bastardii* (**Maiza-Benabdesselam et al., 2007**) ; Inhibition of calcium oxalate monohydrate crystal growth using Algerian medicinal plants (**Beghalia et al., 2008**) ; Activité antioxydante de quelques extraits de plantes médicinales algériennes contenant des composés phénoliques (**Djeridane et al., 2006**) ; Eleusine indica Possède des Propriétés antioxydantes, Antibactériennes et Cytotoxiques (**Al-Zubairi et al., 2009**).

### **I.2.1. Plantes médicinales et leurs effets bénéfiques sur la santé**

Nous nous contentons de deux plantes, lesquelles à elles seules constituent à notre sens à eux seuls toute une symbolique.

#### **II.2.1.1. Origan**

L'origan appartient à la famille des Lamiacées. Elle est surtout concentrée (75% de la surface cultivée) dans le pourtour méditerranéen, dans sa partie orientale en particulier

(Ruberto et al.,2002 ; Ietswaart, 1980) . L'origan est souvent considéré comme une forme sauvage de la marjolaine et comme odorant des montagnes (Piccaglia et al., 1993) .

Cette plante est utilisée aussi bien dans les préparations culinaires que dans le traitement de certaines maladies graves, surtout en Algérie et en Tunisie pour ses propriétés antiseptiques, antispasmodiques etc. (Baba Aissa, 1999 ; Sijelmassi, 1991).

D'une manière générale, les espèces d'Origanum sont utilisées comme désinfectants puissants et comme des agents odoriférants dans les parfums (Chiej, 1984).

Ruberto et al. (2002) relèvent également que l'huile essentielle de cette plante possède une activité antioxydante considérable attribuée surtout aux composés phénoliques.

L'étude qui a eu pour objet l'évaluation du pouvoir antimicrobien de l'huile essentielle d'Origanum glandulosum rapporte que ces produits naturels ont montré un effet inhibiteur sur les levures et moisissures isolées à partir de l'hôpital central de Sétif (Belhattab et al.,2004).

#### II.2.1.2. Myrte

C'est un arbrisseau de 1 à 3 mètres de haut, toujours vert, l'écorce est rousse les feuilles sont ovales, persistantes, luisantes au-dessus, et odorantes. Le myrte pousse sur les sols siliceux, argileux, marneux et calcaires (Anonyme, 2007).

Le fruit renferme des anthocyanosides de type hétéroside (Derbel et Ghedira, 2005).

Cette composition explique la capacité de ce fruit à neutraliser les radicaux libres responsables du stress oxydatif. L'huile essentielle des feuilles présente aussi une activité antibactérienne significative vis-à-vis de *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhimurium*, *Salmonella enteritidis* et *Enterococcus faecalis*. Le décocté est actif vis-à-vis de *Staphylococcus aureus* (Anonyme, 2007).

D'autres composés présents dans la myrtille, comme le  $\beta$ -carotène, présentent des propriétés anti-inflammatoires qui pourraient également jouer un rôle dans le traitement de la maladie d'Alzheimer et de la maladie de Parkinson (Menvielle-Bourg, 2005).

En Allemagne, la commission Européenne du ministère de la Santé considère le fruit de myrtille comme astringent, utilisé comme tel dans le traitement symptomatique de la diarrhée et dans les inflammations locales de la cavité buccale (Bruneton, 1999).



# Chapitre II

## Stress oxydatif

## II. 1. Stress oxydant

### II .1. 1. Définition

Le stress oxydatif est un état au cours duquel des substances oxydantes interviennent sur la capacité de défense antioxydative de la cellule (Morelle et Israel, 2003). Conséquemment Il peut s'ensuivre un déséquilibre induit non seulement par une production excessive de radicaux libres mais aussi par une diminution des défenses antioxydantes ; on parle alors de stress oxydant à l'origine bien souvent d'altérations moléculaire source d'une physiopathologie incluant l'athérosclérose, l'inflammation, la fibrose, la dégénérescence neuronale... (Baudin, 2006).

Les espèces réactives de l'oxygène (ROS) sont des dérivés de l'oxygène hautement réactifs et instables induisant un vieillissement des protéines, une peroxydation lipidique et une endommagement de l'ADN (Negre-Salvayre et Salvayre, 2005 ; Baudin, 2006).

## II.2. Radicaux libres

Les radicaux libres sont des particules chimiques (molécules ou atomes) ayant un électron non apparié dans leur périphérie. Cet électron cherchera à se lier avec un autre électron, en s'arrachant à une autre molécule qui devient alors déséquilibrée donc instable. Un tel mécanisme peut enclencher une réaction en chaîne conduisant à la dégradation des molécules et à leur désintégration en molécules plus petites (Morelle et Israel, 2003).

### II.2.1. Espèces réactives de l'oxygène

L'appellation " espèces réactives de l'oxygène " (ERO) se rapporte aux radicaux libres de l'oxygène (radicaux primaires) (Novelli, 1997) :

- radical superoxyde ( $\bullet\text{O}_2^-$ ) ;
- radical hydroxyl ( $\bullet\text{OH}$ ) ;
- monoxyde d'azote ( $\text{NO}\bullet$ ).

Il existe d'autres radicaux appelés « secondaires » et pouvant être retrouvés dans les espaces biologiques. Il s'agit en particulier :

- des radicaux alkyle ( $\text{R}\bullet$ ) ;
- alkoxyde ( $\text{RO}\bullet$ ) ;
- et alkyl peroxyde ( $\text{ROO}\bullet$ ).

Ces dernières espèces chimiques proviennent de l'action oxydante de radicaux libres oxygénés « primaires » (superoxyde, hydroxyle) sur les principales molécules biochimiques tels que les acides gras polyinsaturés. Ces radicaux « secondaires » sont surtout sélectifs (mais en revanche moins réactifs) que les radicaux primaires (**Vergely et Rochette, 2003**). On doit noter par ailleurs certains dérivés oxygénés réactifs non radicalaires ayant une toxicité qui peut équivaloir celle de l'oxygène singulet ( $^1\text{O}_2$ ), peroxyde d'hydrogène ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ), peroxyde d'azote ( $\text{ONOO}^-$ ) (**Novelli, 1997**).

## II.2.2. Production des radicaux libres

Les espèces radicalaires sont naturellement synthétisées dans les organismes vivants. Cette synthèse peut être morbide et elle va généralement de pair avec le métabolisme cellulaire de l'oxygène ainsi que les réactions d'oxydo-réduction (**Lliwell et Gutteridge, 1989**) ; en outre, elle est susceptible de s'avérer endogène ou exogène.

### II.2.2.1. Synthèse d'origine endogène

#### II.2.2.1.1. La mitochondrie

La mitochondrie est la source majeure d' $\bullet\text{O}_2$ . Dans les conditions physiologiques, la production de ce radical est reliée à l'intensité d'oxygénation (activité physique). D'autre part, les désordres mitochondriaux génétiques, inflammatoires ou nutritionnels (carence en ubiquinone) peuvent être des facteurs amplificateurs de cette synthèse (**Sampayo et al., 2003**).

#### II.2.2.1.2. Cellules phagocytaires

Les cellules phagocytaires (polynucléaires et macrophages) sont pourvues de la NADPH oxydase, pourvoyeur quasi exclusif en radical superoxyde ( $\bullet\text{O}_2^-$ ). Cette enzyme n'est habituellement activée que lorsque la cellule phagocytaire est elle-même mise en activité forcée. Il en découle une intense consommation d'oxygène qui se décline sous la dénomination universelle : *respiratory burst*. Le superoxyde ainsi synthétisé est responsable du processus de production d'autres particules chimiques réactives à l'image du peroxyde d'hydrogène ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) ou l'hypochlorite ( $\text{ClO}^-$ ), éléments destructeurs probablement uniques du matériel phagocyté. Ce mécanisme de synthèse de dérivés réactifs de l'oxygène est surtout provoqué au cours des diverses infections et serait impliqué dans le stress oxydatif ce qui est évidemment de nature à pouvant compliquer ces processus de désordre pathologique (**Fahn et Cohen, 1992**).

### II.2.2.1.3. Les xanthines oxydases/xanthine deshydrogenases

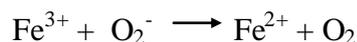
La xanthine-déshydrogénase est une enzyme ubiquitaire qui participe au catabolisme de l'ATP. Dans certains états malades, cette enzyme est transformée en xanthine-oxydase qui elle-même engendre du superoxyde en présence d'oxygène et de xanthine ou d'hypoxanthine, la conséquence étant la production du peroxyde d'hydrogène et d'autres réactions radicalaires. Il s'ensuit que ce processus de synthèse de dérivés réactifs de l'oxygène devrait certainement prendre part au stress oxydatif chez surtout les patients victimes d'une pathologie ischémique (que nous nous permettons de définir simplement comme un défaut de circulation de sang dans un organe) (**Fahn et Cohen, 1992 ; Vergely et Rochette, 2003**).

### II.2.2.1.4. Les ions métalliques

Les ions métalliques, comme le fer et le cuivre, sont connus pour être des précurseurs substantiels de processus radicalaire dans les expériences in vitro : ils transforment  $H_2O_2$  en radical hydroxyl ( $\cdot OH$ ) qui est doté d'une force de nuisance plus marquée encore. Ils intensifient tout particulièrement la peroxydation lipidique (**Fahn et Cohen, 1992**). Selon **Rabaud et al. (1997)**, le radical hydroxyl ( $\cdot OH$ ) est produit à partir de  $H_2O_2$  selon deux réactions non enzymatiques, en présence de formes ionisées de métaux de transition (fer, cuivre) :

- la réaction de Fenton :  $H_2O_2 + Fe^{2+} \longrightarrow OH^- + \cdot OH + Fe^{3+}$

La réduction de  $Fe^{3+}$  par  $O_2^-$  fournit le  $Fe^{2+}$  nécessaire à la réaction,



- la réaction d'Haber-Weiss :  $O_2^- + H_2O_2 \longrightarrow \cdot OH + OH^- + O_2$ .

### II.2.2.2. Origine exogène

Les facteurs promoteurs possibles sont : rayonnements, les rayonnements électromagnétiques, radiolyse de molécules d'eau (rayons ionisant X ou  $\gamma$ ), activation des molécules photosensibilisantes (rayon UV) dont le résultat est la production des ions superoxydes et de l'oxygène singulet. Ce n'est pas tout puisque d'autres facteurs externes sont aussi incriminés. On peut citer à cet égard : la cigarette, les produits chimiques, les pesticides et les poussières d'amiante, la consommation d'alcool, l'effort physique intense (**Morelle et Israel, 2003**).

### II.3. Cibles des agents oxydants

#### II.3.1. Les lipides

Pour cause de stress oxydatif, certains radicaux deviennent tellement incontrôlables qu'ils risquent d'attaquer des cibles cellulaires, sans discernement sommes nous tentés d'ajouter. Ces particules au demeurant très réactives provoquent la peroxydation des lipides membranaires, endommageant du coup la perméabilité des membranes ainsi que la structure des lipoprotéines. De plus, Les radicaux libres provoquent aussi une augmentation de la perméabilité cellulaire en la rendant moins flexible (**Vergely et Rochette, 2003**). La peroxydation s'étale en trois étapes :

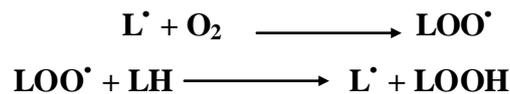
##### ➤ Initiation

La phase d'initiation consiste en un enlèvement d'un atome d'hydrogène à un acide gras situé sur un carbone situé entre deux doubles liaisons, ce qui engendre l'apparition d'un radical alkyle(L'). Cette phase est initiée par les radicaux libres (·OH, L', LO·) (**Cillard et Cillard, 2006**).



##### ➤ Propagation

En réagissant avec l'oxygène moléculaire, la nouvelle molécule apparue dans la phase d'initiation forme un radical peroxyde (LOO·) qui se combine à son tour avec un acide gras attendant pour donner un hydroperoxyde (LOOH) et un nouveau radical lipidique (**Vergely et Rochette, 2003**) :



##### ➤ Terminaison

Cette dernière étape se caractérise essentiellement par l'entrée en jeu de nouvelles particules chimiques anarchiques. La chaîne de propagation peut s'interrompre alors par association des radicaux lipidiques en engendrant des molécules non radicalaires. Celles-ci sont dépourvues d'activité biologique (**Rolland, 2004**).



### II.3.2. Les protéines

L'électron libre des radicaux libres peut réagir avec la structure de certaines protéines, celles notamment qui sont dotées d'un groupement sulfhydryle (-SH). Il s'agit par exemple de nombreuses enzymes cellulaires et des protéines de transport qui vont alors subir une oxydation, le résultat étant soit la formation de ponts entre protéines, soit simplement une désagrégation. Ces réactions peuvent finalement modifier très sensiblement le métabolisme cellulaire en changeant la fonction biologique de ces protéines (**Vergely et Rochette, 2003**).

### II.3.3. Les acides désoxyribonucléiques (ADN)

Les acides nucléiques sont très sensibles aux radicaux libres. L'action de ces derniers dans la molécule d'ADN peut entraîner des disjonctions de brins et des mutations ponctuelles. Ces altérations risquent d'affecter le processus de synthèse des protéines et de transmission du patrimoine génétique dans son ensemble (**Vergely et Rochette, 2003**).

Ces derniers temps, l'action nuisible des radicaux libres sur les acides nucléiques est souvent incriminée dans de nombreux troubles pathologiques : cancer, maladies cardiovasculaires, maladie de Parkinson etc. (**Morelle et Israel, 2003**).

## II.4. Maladies engendrées par le stress oxydant

L'équilibre pro/antioxydants est primordial pour l'homéostasie de la cellule : une toxicité maximale favorise l'effet morbide du stress oxydant sur la cellule (**Negre-Salvayre et Salvayre, 2005**).

D'innombrables maladies sont imputées au stress oxydant : cancer, cataracte, sclérose latérale amyotrophique, vieillissement accéléré. Il est un des facteurs déterminant dans l'apparition de maladies plurifactorielles tels la maladie d'Alzheimer, Parkinson, diabète, les rhumatismes et les maladies cardiovasculaires (**Favier, 1997 ; Baudin, 2006**).

## II.5. Antioxydants

### II.5. 1. Définition

Un antioxydant peut être défini comme toute substance qui, présente à faible concentration par rapport au substrat oxydable, est capable d'atténuer l'oxydation de ce substrat (**Antolovich et al., 2002**).

On distingue :

1) (selon leur cible et leur mécanisme d'action) : les antioxydants primaires et les antioxydant secondaire ;

2) (selon leur origine) : les antioxydants naturels (synthétisés dans l'organisme ou amenés par l'alimentation) ou synthétique (**Vergely et Rochette, 2003**).

### II.5. 2. Antioxydants primaires

Les antioxydants primaires (AH) agissent en principe avec les radicaux peroxyles ou alkoxyles, stoppant ainsi la réaction de propagation de la peroxydation (**Cillard et Cillard, 2006**).

L'action de ces antioxydants se décline sous deux mécanismes :

- **Les donneurs d'hydrogène.** C'est le cas le plus fréquent :

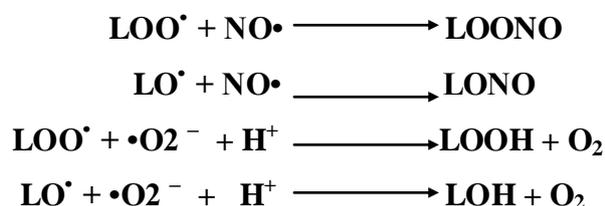


Notons que le radical (A<sup>•</sup>) est plus stable que le radical lipidique. En fait, la stabilité du radical (A<sup>•</sup>) peut se justifier par la transformation suivante (**Rolland, 2004**) :



A-A et AL étant des molécules non radicalaires.

- **Les antioxydants « sacrifiés »** : il s'agit de molécules radicalaires tels que le monoxyde d'azote (NO<sup>•</sup>) et l'anion superoxyde (•O<sub>2</sub><sup>-</sup>), qui, après combinaison avec les radicaux peroxyles ou alkoxyles, donnent des composés non radicalaires (**Cillard et Cillard, 2006**) :



### II.5.3. Antioxydants secondaires

Les antioxydants secondaires (dits aussi préventifs) sont surtout connus pour être aptes à stopper la genèse des radicaux libres en mettant en œuvre plusieurs mécanismes (**Rolland, 2004**) :

- Chélation des métaux comme le fer et le cuivre (qui sont des oxydants) ;
- desactivation de l'oxygène singulet (caroténoïdes) ;
- élimination des hydroperoxydes (intervention des enzymes glutathion peroxydase et catalase) ;
- sequestration d'oxygène (cas de l'acide ascorbique) ;
- premunition contre l'action des rayons ultraviolets (les carotènes) (**Cillard et Cillard, 2006**).

### II.5.4. Systèmes antioxydants de défense

Au-delà de l'importance du dioxygène dans les processus vitaux (respiration par exemple) des milieux biologiques, cette molécule peut s'avérer dangereuse par ses dérivés activés lesquels sont physiologiquement inévitables. Néanmoins, cette toxicité est contrôlée par la présence de systèmes de défense efficaces veillant à minorer la concentration en radicaux libres. Ces mécanismes de défense peuvent se résumer à (**Vergely et Rochette, 2003**) :

- Des systèmes enzymatiques spécifiques ;
- des antioxydants d'origine alimentaire ou synthétique.

#### II.5.4.1. Systèmes enzymatiques antioxydant

Les enzymes telles que la superoxyde dismutase (SOD), la catalase et glutathion peroxydase sont à l'avant-garde dans la lutte contre les attaques oxydatives (**Negre-Salvayre et Salvayre, 2005**).

##### II.5.4.1.1. La superoxyde dismutase

Les superoxydes dismutases (SOD), aptes à évincer l'anion superoxyde selon la réaction suivante (**Rabaud et al., 1997**) :



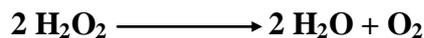
Les superoxydes dismutases (SOD) se présentent sous trois formes ( **Negre-Salvayre et Salvayre,2005** ) :

- 1)- SOD cytoplasmique dimérique à cuivre et zinc (CuZnSOD) ;
- 2)- SOD extracellulaire tétramérique à cuivre et zinc (CuZnSOD) ;
- 3)- SOD mitochondriale tétramérique à manganèse (MnSOD).

Les actions des SOD et des deux autres systèmes enzymatiques antioxydants (la glutathion-peroxydase et la catalase) sont complémentaires puisque ces dernières se chargent d'éliminer le peroxyde d'hydrogène (même celui produit par les SOD) (**Baudin, 2006**).

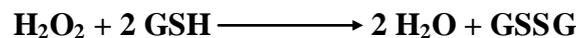
#### II.5.4.1.2. La catalase

La catalase (CAT), localisée seulement dans les peroxysomes et les hématies, catalyse la transformation du peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène (**Rabaud et al., 1997**).



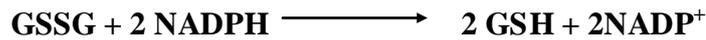
#### II.5.4.1.3. La glutathion peroxydase

La glutathion peroxydase (GPx) enzyme à sélénium, réduit les hydroperoxydes en alcools, et peroxyde hydrogène en eau, avec oxydation du glutathion. La glutathion est oxydée en radical glutathionyle (GS<sup>•</sup>). Deux radicaux glutathionyles donnent du glutathion oxydé (**Rabaud et al., 1997**).



#### II.5.4.1.4. La glutathion réductase

La glutathion réductase (GR) est une flavoprotéine qui permet de générer le glutathion réduit à partir de sa forme oxydée (**Rabaud et al., 1997**) :



Le rôle de cette enzyme est ainsi capital dans la pérennité de l'activité de la glutathion ; elle prémunit contre cumul excessif du glutathion oxydé lui-même responsable de multiples altérations métaboliques comme la synthèse protéique (**Vergely et Rochette, 2003**).

#### II.5.4.2. Antioxydants d'origine alimentaire

Les antioxydants d'origine alimentaire sont multiples (**Léger, 2006**) :

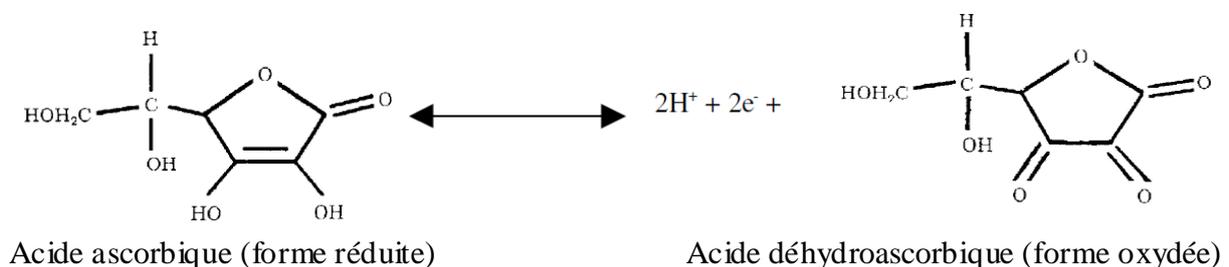
- Certains sont liposolubles : tocophérols,  $\beta$ -carotène, lycopène... ;
- d'autres sont hydrosolubles : acide ascorbique ;
- et d'autres sont plus hydrosolubles que liposolubles : polyphénols.

Les aliments végétariens sont sources de nombreuses substances à potentiel antioxydant (**Morelle et Israel, 2003**).

##### II.5.4.2.1. Acide ascorbique (vitamine C)

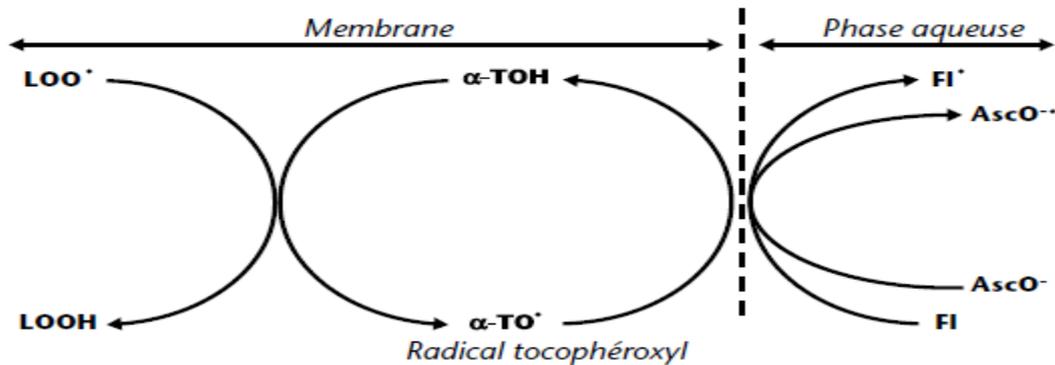
La vitamine C (ou acide ascorbique) est considérée presque à l'unanimité comme l'antioxydant hydrosoluble le plus efficace dans le plasma humain. Grâce au faible potentiel redox du couple ascorbate/radical ascorbyle, la vitamine C est en mesure de céder un électron à presque tous les radicaux libres pouvant intervenir dans un système biologique (radicaux superoxydes, hydroxyles, tocophéroxyles, et peroxydes) (**Vergely et Rochette, 2003**).

La vitamine C est représentée par deux formules chimiques, résultats d'une transformation réversible (**Léger, 2006**) :



**Figure II.1.** Structure des formes oxydée et réduite de l'acide ascorbique (**Léger, 2006**).

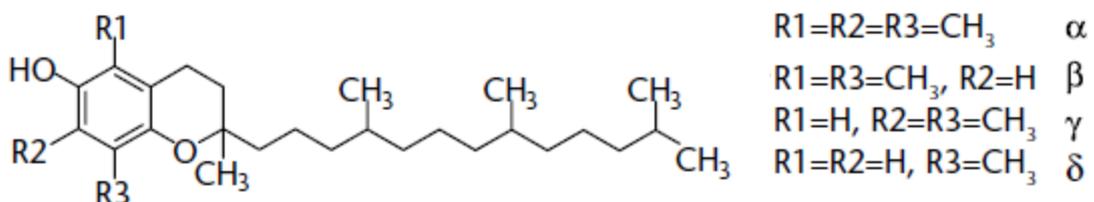
Le rôle de la vitamine C ou l'ascorbate ( $\text{AscO}^-$ ) (figure II.2) est par ailleurs essentiel dans la régénération du radical tocophéroxyl ( $\alpha\text{-TO}^\bullet$ ) dérivé du tocophérol ( $\alpha\text{-TOH}$ ). La vitamine C induit de la sorte une synergie entre les deux molécules. **Tappel (1968)** est le premier à suggérer cette aptitude *in vivo* laquelle est déterminante dans la défense antiradicalaire des membranes biologiques (**Laguerre et al., 2007 ; Léger, 2006**).



**Figure II.2.** Mécanisme de régénération potentiel entre l' $\alpha$ -tocophérol ( $\alpha\text{-TOH}$ ), l'ascorbate ( $\text{AscO}^-$ ) et les flavonoïdes (FI) dans les systèmes membranaires (**Léger, 2006**).

#### II.5.4.2.2. Les tocophérols (vitamine E)

La vitamine E appartient à la famille des tocophérols, molécules naturelles lipophiles, apportées par l'alimentation (**Toussaint et al., 2003**). Elle existe sous quatre formes  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  et  $\delta$ - tocophérols, se distinguant les uns des autres par la position des groupes méthyles sur le cycle aromatique (figure II.3) (**Causse, 2005**). Elle est représentée globalement par l'alpha-tocophérol (**Vergely et Rochette, 2003**).



**Figure II.3.** Structure des tocophérols (**Laguerre et al., 2007**).

Par son activité, le tocophérol, est une substance antioxydante puissante grâce tout particulièrement à son caractère lipophile. Il est en mesure d'inhiber la propagation de la peroxydation en réduisant les peroxydes lipidiques membranaires en alcool correspondant. En échangeant un électron libre, le tocophérol se transforme en radical tocophéroxyde, peu réactif de par sa structure cyclique. Le radical tocophéroxyde peut être régénéré par l'ascorbate (Vergely et Rochette, 2003 ; Toussaint et al., 2003).

#### II.5.4.2.3. Les caroténoïdes

Les caroténoïdes, avec plus de 600 sortes, sont des pigments liposolubles synthétisés par les végétaux à qui ils attribuent une couleur orange, rouge ou jaune. Les plus importants sont  $\beta$ -carotène,  $\alpha$ -carotène, lycopène, zéaxanthine,  $\beta$ -cryptoxanthine et lutéine (figure II.4) (Causse, 2005).

Le groupe des caroténoïdes comprend des molécules tétraterpéniques ( $C_{40}$ ) formées par l'enchaînement de huit unités isopréniques (Derbel et Ghedira, 2005).

Parmi les fruits et légumes riches en caroténoïdes on cite souvent : les carottes, les épinards, les tomates, les navets, les laitues et les brocolis (Derbel et Ghedira, 2005).

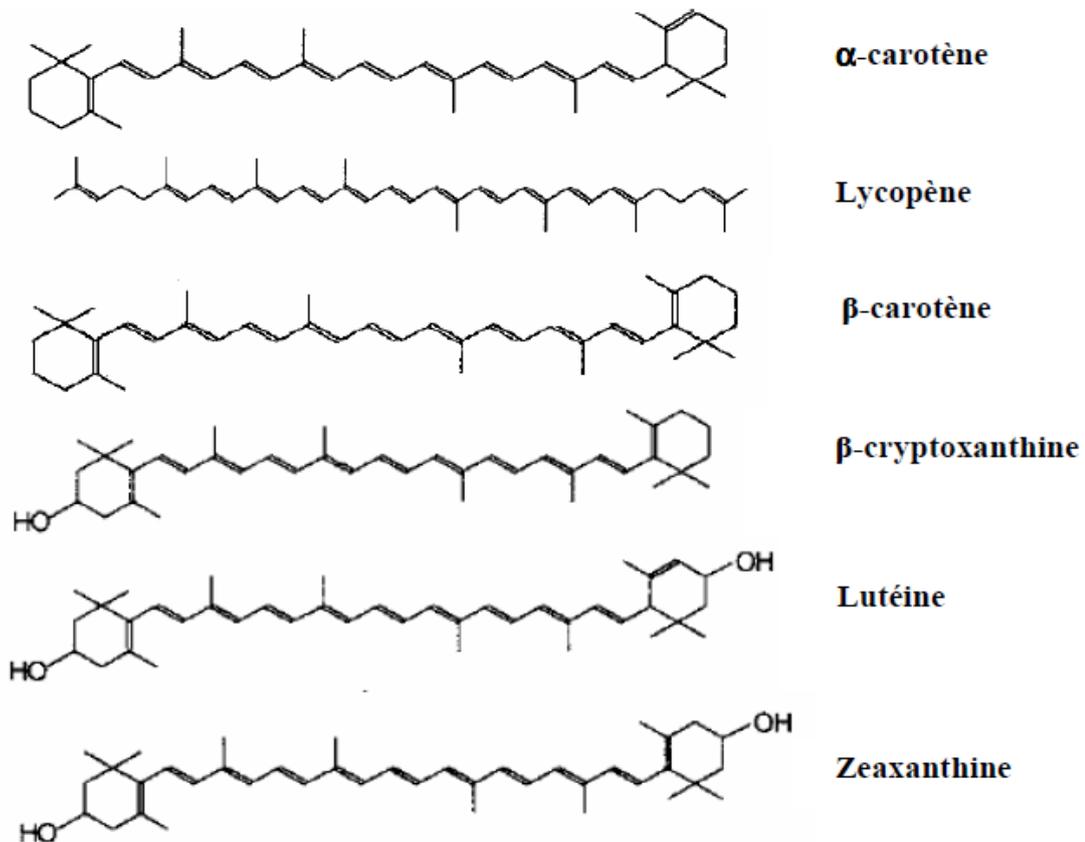
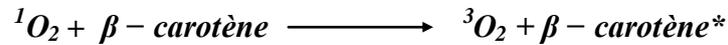
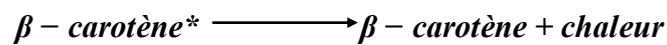


Figure II.4. Structure des principaux caroténoïdes (Laguerre et al., 2007).

Comme il a été signalé précédemment, les caroténoïdes sont les molécules les plus efficaces pour piéger l'oxygène singulet par la désactivation de  $^1\text{O}_2$  en  $^3\text{O}_2$  (voir réaction).



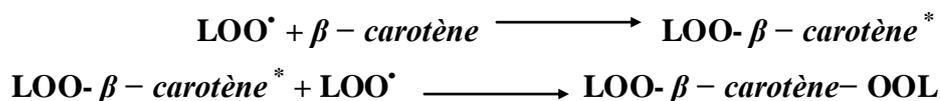
Grâce au long système polyénique conjugué de ces molécules, l'excès d'énergie de leur état excité ( $\beta$ -carotène\*) est dissipé au travers d'interactions vibrationnelles et rotationnelles avec le solvant ou leur environnement (réaction).



Par ce mécanisme de dissipation de l'énergie sous forme de chaleur, le  $\beta$ -carotène régénéré peut réinitier un nouveau cycle de séquestration de l' $^1\text{O}_2$  et constitue de ce fait un piègeur non stoechiométrique (**Laguerre et al., 2007**). On pense généralement que chaque molécule de caroténoïde pourrait piéger environ 1 000 molécules d' $^1\text{O}_2$ , avant de réagir chimiquement et de former un produit (**Hercberg et al., 1996**).

Il en ressort que les caroténoïdes et les tocophérols contribueraient de façon égale à la protection tissulaire contre les effets délétères de l' $^1\text{O}_2$ , puisque **Laguerre et al. (2007)** estiment que les tocophérols sont environ 30 fois plus abondants que le  $\beta$ -carotène, *in vivo*.

La  $\beta$ -carotène empêche la peroxydation lipidique, le mécanisme d'action étant illustré ci-dessous (**Laguerre et al., 2007**):



Certains caroténoïdes exercent une action protectrice contre les rayonnements UV au niveau de la peau et des yeux (**Causse, 2005**). Ainsi, la lutéine et la zéaxanthine s'accumulent au niveau des tissus oculaires et s'avèrent intéressants dans la prévention de la cataracte et de la dégénérescence maculaire liée à l'âge. On a suggéré pour d'autres composés appartenant à cette classe un rôle protecteur à l'encontre de divers cancers comme le cancer du poumon, et celui de la prostate. Le lycopène diminue également la prévalence des maladies cardiovasculaires, le cancer et l'athérosclérose (**Derbel et Ghedira, 2005 ; Joanny Menvielle-**

**Bourg, 2005).** Le lycopène est deux fois plus puissant que le bêta-carotène mais il l'est dix fois plus que la vitamine E (**Joanny Menvielle-Bourg, 2005**).

#### II.5.4.2.4. Les polyphénols

Les polyphénols regroupent plus de 8 000 molécules divisées en différentes classes chimiques qui ont en commun : la présence dans leur structure d'au moins un cycle aromatique à 6 carbones, lui-même porteur d'un nombre variable de fonctions hydroxyles (OH) (**Hennebelle et al., 2004**).

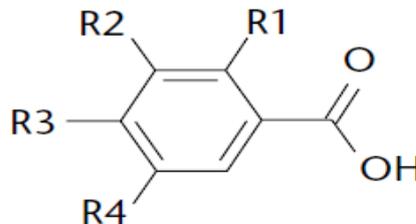
**Calabrese (2003)** à quant à lui classé les polyphénols en trois principaux groupes : acides phénoliques, flavonoïdes et Tanins.

##### ➤ Acides phénoliques

Il englobe deux groupes, les acides hydroxybenzoïques et les acides hydroxycinnamiques (**Sarni-Manchado et cheynier, 2006**).

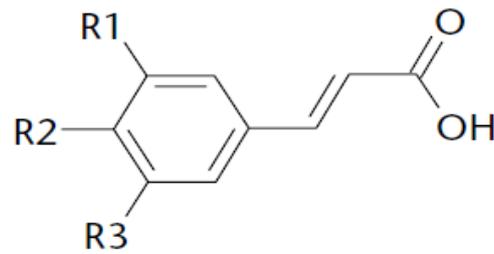
Les acides hydroxybenzoïques présentent une structure en C<sub>6</sub>-C<sub>1</sub> : l'acide salicylique, l'acide gentisique, l'acide gallique... (Figure II.5).

Les acides hydroxycinnamiques en C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub> : les acides coumarique, ferulique, caféique... (Figure II.6) (**Chira et al., 2008**).



R1=R2=R3=R4=H	Acide benzoïque (non phénolique)
R1=R4=H, R2=R3=OH	Acide protocatéchique
R1=H, R2=R3=R4=OH	Acide gallique
R1=OH, R2=R3=R4=H	Acide salicylique
R1=R4=OH, R2=R3=H	Acide gentisique

**Figure II.5.** Structure de quelques acides hydroxybenzoïques (**Laguerre et al., 2007**).



R1=R2=R3=H	Acide cinnamique (non phénolique)
R1=R3=H, R2=OH	Acide <i>p</i> -coumarique
R1=R2=OH, R3=H	Acide caféique
R1=OCH <sub>3</sub> , R2=OH, R3=H	Acide férulique
R1=R3=OCH <sub>3</sub> , R2=OH	Acide sinapique

**Figure II.6.** Structure de quelques acides hydroxycinnamiques (Laguerre et al., 2007 ).

### ➤ Flavonoïdes

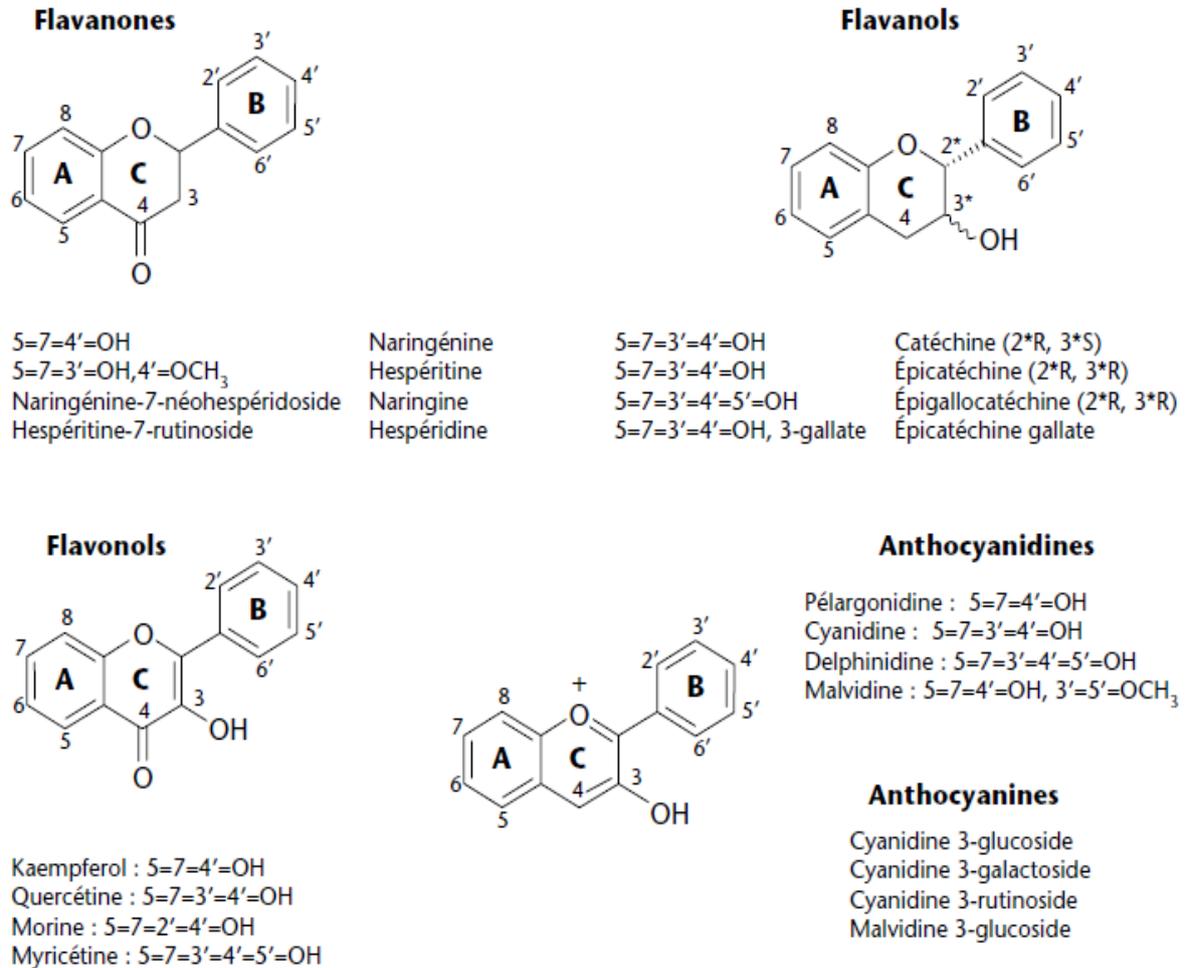
Les flavonoïdes sont des composés polyphénoliques comprenant 15 atomes de carbone formant une structure C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>, soit deux noyaux aromatiques (A et B) et un hétérocycle oxygéné (cycle C) (Chira et al., 2008) (Figure II.7).

Ce sont les composés les plus abondants parmi tous les composés phénoliques ( plus de 6 000 composés) chez les plantes (Ghedira, 2005). Ils sont responsables des colorations jaune, orange et rouge des végétaux (fruits, légumes et plantes médicinales (Havsteen, 2002 ; Ghedira, 2005).

Les flavonoïdes se subdivisent en différentes classes dont on peut citer les flavones, les flavonols, les flavanones et les anthocyanes (Chira et al., 2008) (Figure II.7).

Les anthocyanes confèrent surtout aux végétaux une teinte (rouge, rose, mauve, bleue, violette... (Bruneton, 1999).

Les anthocyanes sont répandus dans plusieurs fruits tels que les cerises, les myrtilles, le raisin... Ils sont rencontrés aussi dans des légumes comme les racines de betterave et de radis, les bulbes d'oignon rouge et dans des boissons comme les jus de fruits, et le thé (Bruneton, 1999).



**Figure II.7.** Principales classes de flavonoïdes (Laguerre et al., 2007 ).

### ➤ Tanins

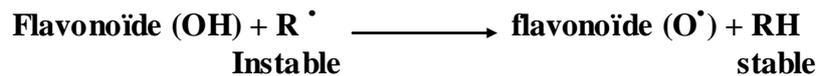
Les tanins sont divisés en deux groupes :

- les tanins hydrolysables : ils libèrent l'acide gallique, le glucose, l'acide quinique... ; et les
- les tanins condensés ou non hydrolysable : tanins catéchiques (proanthocyanidols) (Sarni-Manchado et cheynier, 2006).

Les tanins sont particulièrement rencontrés dans les caroubes, les fèves sèches, le thé, le vin, l'écorce des grenades, les grains (Bruneton, 1999).

La particularité structurale des polyphénols fait d'eux des donneurs de protons ( $H^+$ ) ou d'électrons induisant la formation d'un radical fortement stabilisé (**Sarni-Manchado et cheynier, 2006**).

De nombreux composés phénoliques et spécialement les flavonoïdes sont des antiradicalaires puissants. Ils peuvent piéger les radicaux libres tels que  $OH^\bullet$  et  $O_2^\bullet$  en s'oxydant selon la réaction suivante (**Ghedira, 2005**) :



Ces molécules peuvent aussi inhiber les oxydations de façon indirecte en :

- désactivant l'oxygène singulet (l'oxydant très puissant des acides gras insaturés),
- complexant les métaux de transition ( $Fe^{2+}$ ,  $Cu^+$ ) favorisant l'autoxydation des lipides en
- inhibant certains enzymes d'oxydation (**Sarni-Manchado et cheynier, 2006**).

#### II.5.4.2.5. L'oligo-élément (Le sélénium)

Le sélénium est un oligo-élément présent dans le sol. C'est un antioxydant qui protège contre les radicaux libres que nous avons décrit en détail dans les parties précédentes. Le sélénium est en outre nécessaire au fonctionnement de la glutathion peroxydase déjà discutée plus haut.

Cet oligo-élément est plus efficace lorsqu'il est associé à d'autres antioxydants comme la vitamine E. L'étude NPC (Nutritional Prevention of Cancer) a montré qu'une supplémentation en sélénium réduit la mortalité par cancer de 50% (**Causse, 2005**).

#### II.5.4.3 Antioxydatifs de synthèse.

De nombreux antioxydatifs de synthèse sont utilisés comme additifs alimentaires : butylhydroxyanisole, butylhydroxytoluène, propylgallate. Ce sont des dérivés phénoliques qui agissent comme la vitamine E. (**Negre-Salvayre et Salvayre, 2005**).

# Chapitre III

## Activité antibactérienne

### III.1. Généralités

Il est connu que le traitement des infections bactériennes se base principalement sur l'usage des antibiotiques. Hélas, la consommation à grande échelle de ces « médicaments » a entraîné la sélection de souches multirésistantes d'où l'importance d'orienter les recherches vers de nouveaux substituts, surtout les végétaux qui ont toujours constitué une source d'inspiration dans les recherches médicales (**Ali-Shtayeh et al., 1998**).

Toujours dans cet ordre d'idées, les huiles essentielles à côté des extraits de diverses plantes restent d'un grand intérêt pour la valorisation des ressources naturelles végétales. En fait, leurs utilisations potentielles comme remèdes alternatifs dans le traitement de nombreuses maladies infectieuses et comme moyens de préservation des aliments contre les processus d'oxydation ont été soulignés dans la littérature scientifique (**Kelene et Tepe, 2008**).

Plusieurs travaux sont consacrés à l'étude du pouvoir antimicrobien des huiles essentielles et/ou des extraits méthanolique des végétaux, mais peu de travaux sont consacrés aux extraits aqueux.

### III.2. Définition de l'activité antibactérienne

L'activité antibiotique (nous parlerons pour notre part et dans la suite du document d'antibactérienne) correspond à activité d'une molécule ou composé présent au sein d'un végétal qui à très faible concentration, inhibe le développement d'une bactérie ou la tue.

La sensibilité d'une bactérie à un antibactérien varie selon la nature de l'antibactérien. Face à un antibactérien donné, la sensibilité d'une bactérie peut être très différente selon la souche d'appartenance (**Nicolas et Daniel, 1998**).

### III.3. Définition de la CMI (concentration minimale inhibitrice)

Nous pouvons définir la concentration minimale inhibitrice d'un composé vis-à-vis d'une espèce bactérienne comme étant la plus petite concentration de ce composé qui empêche tout développement de la bactérie donnée (**Nicolas et Daniel, 1998 ; Nejja et al., 2006**).

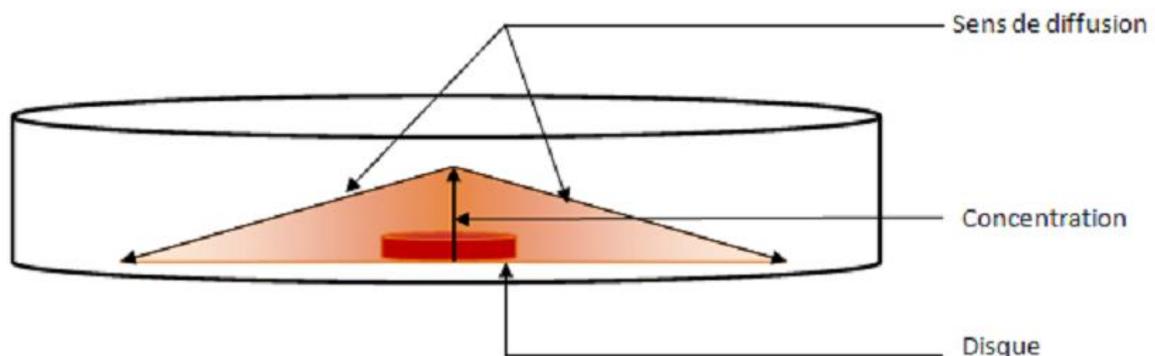
En terme d'ordre de grandeur, les CMI correspondent à des valeurs proches du  $\mu\text{g/ml}$  : dans tous les cas plus la CMI est faible, plus l'antibactérien est actif.

Il convient de noter que lorsqu'une bactérie se montre sensible à un antibiotique, ce dernier est susceptible d'être utilisé comme traitement de ce type d'infections (**Nicolas et Daniel, 1998**).

#### III.4. Principe de l'antibiogramme.

La réalisation d'un antibiogramme consiste en la recherche de la sensibilité d'une bactérie à un certain nombre d'antibiotiques.

Parmi les multiples méthodes appliquées, celle dite de diffusion en milieu gélosé s'avère la plus utilisée pour réalisation d'un antibiogramme. Cela consiste à placer un disque de papier imprégné d'antibiotique sur la gélose inoculée au préalable. L'antibiotique s'humidifie puis diffuse dans le milieu en provoquant un gradient de concentration décroissant autour du disque. Nous pouvons schématiser tout ce processus comme suit (Figure III.1) :



**Figure III .1.** Schématisation du principe de la mise en œuvre de l'antibiogramme.

Ainsi la bactérie se développera-t-elle si la concentration en antibiotique est inférieure à la concentration minimale inhibitrice ce qui se matérialisera par l'apparition d'une zone circulaire d'inhibition de la croissance bactérienne autour du disque (**Nicolas et Daniel, 1998**).

### III.5. Méthodes de détermination de l'activité antimicrobienne

On cite souvent ces 3 méthodes car considérées comme fournissant des résultats reproductibles :

- diffusion en disque,
- dilution en bouillon,
- dilution en gélose.

#### III.5.1. Méthode de la diffusion en disque

Cette méthode a été décrite précédemment.

##### III.5.1.1. Intérêt

La diffusion en disque est facile à mettre en oeuvre, reproductible et ne nécessite pas d'équipement coûteux. On doit noter en plus la facilité de modification des disques antimicrobiens si nécessaire

#### III.5.2. Méthodes de dilutions en bouillon et gélose

Le but de ces méthodes est de déterminer la CMI, habituellement exprimée en  $\mu\text{g/ml}$  ou  $\text{mg/litre}$ ).

##### III.5.2.1. Dilution en bouillon

Il s'agit d'une technique dans laquelle une suspension de bactéries est expérimentée contre différentes concentrations d'un antimicrobien dans un milieu liquide. Cette méthode peut être effectuée soit dans des tubes contenant un volume minimum de 2 ml (macrodilution : volume = 2ml) soit en microtitration (microdilution : plus petits volumes). Comparée à la dilution en gélose, cette méthode est plus reproductible et quantitative.

##### III.5.2.2. Dilution en gélose

La dilution en gélose nécessite l'introduction d'un agent antimicrobien dans un milieu gélosé dans une progression exact des concentrations. On procède ensuite à l'application d'un inoculum bactérien défini à la surface de la gélose de la boîte. Les résultats sont souvent considérés comme étalon pour la détermination d'une CMI (combinaison de l'essai bactérie/antimicrobien) (Anonyme, 2005).

### III.6. Le choix de la bactérie

Le choix de bactérie s'est porté sur *Staphylococcus aureus* appartenant à Gram +. Cette souche est fréquente en pathologie humaine, **(Kaloustian et al., 2008)**.

Le staphylocoque doré (*Staphylococcus aureus*) est l'espèce la plus pathogène du genre *Staphylococcus* et en tout milieu. Il possède un pouvoir invasif par une forte capacité à se multiplier et à se disperser dans l'organisme. En outre, elle est dotée d'un pouvoir toxigène et antigéniques chez le sujet infecté **(Nejjah et al., 2006)**.

Cette espèce bactérienne est souvent responsable d'infections nosocomiales qui constituent un problème majeur de santé publique. L'émergence de la multirésistance chez ces bactéries est une des principales causes des insuccès dans les traitements de soin **(Kaloustian et al., 2008)**.

# **Partie**

# **Expérimentale**

# Chapitre IV

## Matériels et méthodes

### IV.1. Echantillonnage

Les végétaux sont soit achetés au marché local de Réghaïa en automne/hiver (2008/2009) en opérant pour un choix aléatoire, soit cueillis par nous-mêmes sur la partie septentrionale de la commune de Bouzeguène à 60 km à l'extrême est de la wilaya de Tizi-Ouzou. Le nom et l'origine du matériel végétal sont indiqués en annexes.

Chaque fruit et légume est d'abord lavé avec l'eau distillée puis l'excès d'eau est enlevé avec du papier absorbant avant de séparer, quand cela est possible, la pelure, la pulpe et les noyaux ou (pépin, grain). Certains échantillons ont été conservés à -20 °C pour les utilisations ultérieures. Par contre les plantes médicinales sont lavées, débarrassées d'impuretés puis séchées à l'air libre avant leurs utilisations.

### IV.2. Extraction

La préparation des extraits est réalisée selon la procédure décrite par **(Guo et al., 2003)** avec une légère modification. Le choix de l'eau distillée comme solvant trouve tout son intérêt même dans les applications industrielles. En effet, comme rapporté par **Rolland (2004)**, il existe de nouvelles exigences réglementaires du secteur des compléments alimentaires qui préconisent des solvants d'extraction à l'eau ou à très faible degré alcoolique.

En bref, une petite quantité de chaque fraction du végétal est triturée dans un mortier. A une portion de 1 gramme de la masse homogénéisée est ajoutée l'eau distillée (1:50 P/V) et le mélange est immédiatement centrifugé à 6000 g pendant 10 min à 4°C. Le surnageant est directement utilisé pour les analyses.

### IV.3. Mesure de l'activité antioxydante

L'activité antioxydante, quantifiée par le biais du pouvoir réducteur selon la procédure décrite par **Oyaizu (1986)**, indique l'aptitude des extraits à réduire le fer (III) en fer (II). Le mécanisme est connu comme étant un indicateur de l'activité donatrice d'électrons, caractéristique de l'action antioxydante des polyphénols **(Yildirim et al., 2001)**.

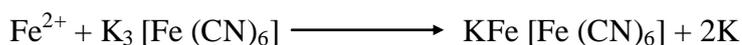
Une quantité aliquote (1ml) de chaque extrait est mélangée avec 2.5 ml de tampon phosphate (0.2 M, pH 6.6) et 2.5 ml de solution aqueuse d'hexacyanoferrate de potassium  $K_3 [Fe (CN)_6]$  à 1%. Après 30 min d'incubation à 50 °C, 2.5 ml de la solution d'acide trichloracétique à 10% est ajoutée et le mélange est ensuite centrifugé à 3000 g pendant 10 min (centrifugeuse HERMLE Z 323 K). Une aliquote (2.5 ml) du surnageant est combiné avec 2.5 ml d'eau distillée et 0.5 ml de solution aqueuse de  $FeCl_3$  à 0.1% puis l'absorbance est

mesurée à 700 nm (spectrophotomètre UV/VIS de marque JASCO V-530). Une absorbance élevée indique une activité antioxydante élevée. Les résultats (moyenne de trois mesures), dans le souci d'en rendre plus accessible la portée, sont exprimés en équivalents d'acide ascorbique (mg acide ascorbique/100g de masse fraîche (m.f) de fruit, unité qui peut être convertie en moles ou en mmoles d'acide ascorbique/100g (m.f) sachant la masse moléculaire de l'acide ascorbique égale à 176 g/litre.

Le mécanisme d'action peut être schématisé comme suit :



En ajoutant un réducteur (substance antioxydante) à cette solution,  $\text{Fe}^{3+}$  est déduit sous forme  $\text{Fe}^{2+}$  ce dernier réagit avec hexacyanoferrate de potassium  $\text{K}_3 [\text{Fe} (\text{CN})_6]$ , suite à cette réaction la coloration jaune brune passe à une coloration bleue de prusse selon la réaction suivante :



En prenant comme référence la teneur moyenne approximative en vitamine C de l'orange (50 mg/100g m.f de fruit), les valeurs des (AA) des échantillons sont arbitrairement classées en quatre catégories: +++: (A.A)  $\geq 1000$ , ++:  $500 \leq (\text{A.A}) < 1000$ , +:  $50 \leq (\text{A.A}) < 500$ , -: (A.A)  $< 50$  mg vitamine C/100g (m.f).

#### IV.4. Indice d'hétérogénéité (IH)

Il nous a paru intéressant d'introduire l'indice d'hétérogénéité (IH) défini comme :

$$\text{IH} = \text{AA}_{\text{max}}/\text{AA}_{\text{min}}$$

où :

$\text{AA}_{\text{max}}$  : activité antioxydante maximale obtenue pour chaque végétal,

$\text{AA}_{\text{min}}$  : activité antioxydante minimale obtenue pour le même organe végétal.

En fait, nous nous sommes inspirés, pour cet indice, de la théorie de l'ionisation des aliments lorsqu'il s'agit de rendre compte de l'hétérogénéité des doses de rayonnements appliquées sur une denrée alimentaire (**Federighi et Tholozan, 2001**).

Un écart important de la valeur 1 indique une hétérogénéité importante dans la distribution des substances antioxydantes dans les différentes parties des végétaux étudiés.

#### IV.5. Effet synergique (ES)

L'effet synergique de quelques extraits aqueux est calculé d'après la méthode décrite par **Peyrat-Maillard et al. (2003)** avec une certaine adaptation à notre cas :

$$ES = (AA)_{exp} / (AA)_{cal}$$

où :

(AA)<sub>exp</sub> : valeur de l'activité antioxydante expérimentale,

(AA)<sub>cal</sub> : valeur de l'activité antioxydante calculée selon la somme des valeurs des activités antioxydante de tous les extraits du mélange multipliées par leurs fractions volumiques dans le mélange (1/2 ou 1/3 pour les combinaisons binaires ou tertiaire respectivement).

En fonction des valeurs de l'effet synergique, il y a, entre les extraits :

- effet synergisme (ES >1),
- antagonisme (ES <1),
- ni synergisme ni antagonisme (ES =1).

#### IV.6. Dosage des antioxydants

##### IV.6.1. Dosage des polyphénols totaux

Le dosage des polyphénols totaux est réalisé par la méthode décrite par **Juntachote et al. (2006)** avec quelques modifications.

##### IV.6.1.1. Préparation de la gamme d'étalonnage

- Peser 200 mg d'acide gallique ;
- les dissoudre dans 100 ml d'éthanol, soit une solution (S<sub>1</sub>) avec une concentration de 2 mg/ml ;
- diluer la solution mère comme suit :
- Prélever 5 ml de la solution mère puis ajouter 5 ml d'eau distillée et l'on obtient la dilution S/2 ;
- prélever 5 ml de la solution S/2 puis ajouter 5 ml d'eau distillée et l'on obtient la dilution S/4 ;
- refaire la même procédure pour les autres dilutions.

Les différentes dilutions et concentrations obtenues sont données dans le tableau IV.1

#### IV.6.1.2. Détermination de la teneur en polyphénols dans les différents échantillons

- Prélever 0.5 ml de chaque dilution de l'échantillon dans des tubes à essais ;
- ajouter 5 ml d'eau distillée dans chaque tube ;
- additionner 0.5 ml de réactif de Folin-Ciocalteu's ;
- après 3 mn, ajouter 0.5 ml de carbonate de sodium à 20 % ;
- laisser incuber pendant une heure à température ambiante et à l'abri de la lumière.

**Tableau IV.1.** Préparation des dilutions de l'acide gallique pour la réalisation de la courbe d'étalonnage

Dilution	S	S/2	S/4	S/8	S/16	S/32	S/64	S/128	S/256
Concentrations (mg/ml)	2	1	0.5	0.25	0.125	0.062	0.031	0.015	0.007

Le blanc est représenté par 5 ml d'eau distillée additionnés de 0.5 ml de Folin-Ciocalteu's et 0.5 ml de carbonate de sodium à 20 %.

La lecture des absorbances est faite à 760 nm, après agitation suivi d'un repos d'une heure. La concentration en composé phénoliques totaux est déterminée en se référant à la courbe d'étalonnage obtenue en utilisant l'acide gallique comme standard d'étalonnage.

#### IV.6.2. Dosage de l'acide ascorbique

Le teneur en acide ascorbique des végétaux est déterminée selon la méthode de **Klein, et Perry (1982)** avec quelques modification.

Une quantité de végétal (0.5g) est mélangée avec 15 ml de l'acide oxalique (1%, v/v). Après 1 heure d'extraction, le mélange est centrifugé à 3000g à la température ambiante pendant 15 minutes.

Un (1ml) de surnageant est ajouté à 9 ml de dichlorophenol indophéno1 (DPIP) à 0.2 mM. Après mélange pendant 15 secondes, l'absorbance est mesurée à 515 nm.

La teneur en acide ascorbique des végétaux, exprimée en mg/100g, est déterminée en se référant à une courbe d'étalonnage obtenue en utilisant l'acide ascorbique pur.

### IV.6.3. Dosage des caroténoïdes totaux

Le teneur en caroténoïdes totaux des extraits est déterminé selon la méthode rapportée par **Talcott et Howard (1999)** avec quelques modifications.

2 g de végétal sont homogénéisés puis, pour l'extraction des caroténoïdes, sont traités avec 25 ml du mélange acétone/éthanol (1 :1, v/v) et 200 mg/l butyl- hydroxytoluène (BHT). La manipulation est réalisée à l'abri de la lumière car les caroténoïdes sont sensibles à cette dernière.

Après extraction, l'échantillon est centrifugé à 1500g pendant 15 minutes à 4-5°C. L'extraction est refaite pour le résidu plusieurs fois dans les mêmes conditions jusqu'à ce que le filtrat soit décoloré. A la fin les surnageants sont récupérés dans une fiole de 100 ml et l'absorbance est lue à 470 nm. La concentration en caroténoïdes est estimée en mg/100g en se référant à la courbe d'étalonnage obtenue en utilisant le  $\beta$ - carotène.

## IV.7. Activité antibactérienne

### IV.7.1. Matériel végétal

Douze végétaux ont été sélectionnés parmi les 57 étudiés (les fruits, les légumes et plantes médicinales) pour déterminer l'activité antibactérienne. Le nom et la partie utilisée sont indiqués dans le tableau V.22.

### IV.7.2. Extraction

La préparation des extraits est réalisée de la même manière que pour la mesure de l'activité antioxydante avec seulement un léger changement dans les proportions échantillon/solvant : à une prise d'essai de 1 gramme de la masse homogénéisée sont ajoutés 9 ml l'eau distillée d'où le rapport (1:9 P/V) (**Guo et al., 2005**).

### IV.7.3. Matériels biologiques

Les tests sont réalisés sur une souche de *Staphylococcus aureus* fournie par le laboratoire de microbiologie du Département de Biologie à l' Université M'hamed Bougara de Boumerdès.

La souche est cultivée sur milieu gélose nutritif (GN) puis incubée durant la nuit pour une durée de 18 à 24 heures à 37 °C. Avant de procéder aux tests de mesure de l'activité antibactérienne.

#### IV.7.4. dénombrement de la suspension bactérienne

Le dénombrement des germes en vue de définir les concentrations bactériennes dans l'étude de l'activité antibactérienne des extraits aqueux des végétaux a été effectué par la technique de dilution selon **Bouaoun et al.(2007)**.

La méthode consiste à préparer une série de dilutions de  $10^{-1}$  à  $10^{-7}$ . 0,1 ml de chacune des dilutions a servi pour inoculer une boîte de Petri contenant chacune 20ml du milieu de Gélose nutritif, puis incubés à 37 °C pendant vingt-quatre heures. Cette opération est répétée trois fois pour chaque dilution. La moyenne des nombres des colonies des trois boîtes a été ensuite calculée pour chaque dilution. Le nombre total des germes (moyenne de trois mesures) est exprimé en unités formant une colonie UFC/ml (*units forming colonies*).

#### IV.7.5. Détermination de l'activité antibactérienne

Les douze extraits aqueux de végétaux, et leurs combinaisons, ont été testés pour l'évaluation de leur pouvoir antibactérien contre *Staphylococcus aureus*.

La technique utilisée pour ce test est la méthode de diffusion du disque dont le principe est la détermination de la sensibilité de la souche microbienne (**Nicola et Daniel, 1998**).

##### IV.7.5.1. Technique

- Couler une gélose (d'agar Mueller-Hinton) pour antibiogramme dans une boîte de Petri (volume 25 cm<sup>3</sup> pour une boîte de 90 mm de diamètre, hauteur du milieu de 4 mm) puis laisser refroidir ;
- préparer un inoculum par la méthode de dilution ;
- ensemercer par inondation : déposer 2 à 3 ml d'inoculum sur la surface du milieu et baigner cette surface en inclinant la boîte (couvercle fermé) ;
- prélever soigneusement l'excès d'inoculum en l'aspirant avec une pipette Pasteur munie d'un dispositif d'aspiration : éliminer cet excédent dans le bac à eau de javel ;
- laisser sécher à température du laboratoire pendant 10 à 15 minutes.,
- à l'aide de pinces, stérilisées par passage dans la flamme du bec Bunsen, déposer 4 à 6 disques de papier buvard de 6 mm de diamètre (imprégnés préalablement d'extraits à

analyser) sur la gélose. Avec la pince appuyer très légèrement sur chacun des disques, pour le faire adhérer à la gélose.

La répartition des disques sur le milieu, doit être au minimum localisée à 15 mm du bord de la boîte.

- Déposer sur la même boîte des disques imprégnés de l'eau distillée et de l'antibiotique (Ampicilline) servant respectivement de témoin négatif et de témoin positif ;
- Attendre 30 minutes à température ambiante (ce délai permet à l'extrait de diffuser avant le démarrage de la culture) puis incuber la boîte retournée durant 24 h à 37°C.

#### IV.7.5.2. Lecture

Pour chacun des disques déposés on mesure à l'aide d'une règle graduée le diamètre de la zone d'inhibition de la culture.

En fonction du diamètre d'inhibition on peut distinguer :

- Diamètre  $\geq 25$  mm : la bactérie est dite « **sensible** » à l'extrait ;
- diamètre  $\leq 8$  mm : la bactérie est dite « **résistante** » à l'extrait ;
- dans les autres cas la sensibilité de la bactérie sera dite « **intermédiaire** ».

#### IV.7.6. Détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI)

La CMI est déterminée selon la méthode de dilution en milieu liquide, rapportée par **Nicola et Daniel (1998)** avec une légère modification.

##### IV.7.6.1. Technique

- Préparer une série de tubes de bouillon nutritif ;
- constituer une gamme de concentrations de l'extrait à tester (concentrations croissantes et connues en extrait). Introduire dans chaque tube la quantité (1 ml) d'extrait de concentration bien déterminée ;
- prévoir un tube de contrôle (témoin) de croissance de la souche à tester ;
- ajouter la même quantité de germes (inoculum) dans chaque tube ;
- incuber les tubes à 37°C pendant 24 heures.

##### IV.7.6.2. Lecture

Après 24 heures d'incubation, les tubes sont examinés à l'oeil nu.

**IV.8. Analyse statistique**

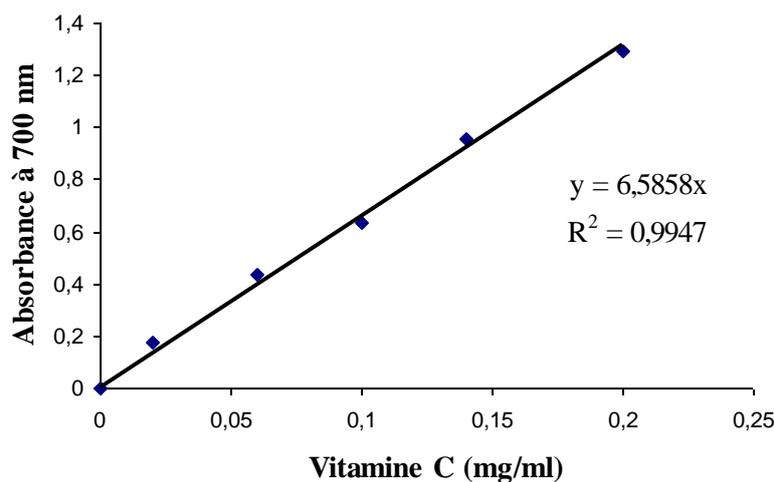
Les résultats sont exprimés sous forme de moyenne  $\pm$  écart type ( $n = 3$ ). Le logiciel XLSTAT est utilisé pour l'analyse de la variance (ANOVA).

# Chapitre V

## Résultats et discussions

### V.1. Pouvoir réducteur des 28 fruits étudiés

La recherche scientifique ne cesse pas d'investir tous les aspects liés à l'étude de l' (AA) de produits végétaux. A cet effet, de nombreuses méthodes (y comprise celle décrite dans le présent travail) recourant à l'eau distillée comme solvant d'extraction sont utilisées (Blázovics et al., 2003 ; Chen et Yen, 2007).



**Figure V.1.** Courbe d'étalonnage de la vitamine C (pouvoir réducteur).

Dans un premier temps l'activité antioxydante (exprimée en mg de vitamine C) a été déterminée dans les différentes espèces étudiées en se servant de la courbe d'étalonnage de la figure V.1

Comparativement à tous les autres fruits étudiés, la fraction (pelure + pulpe) des baies de l'arbousier montre un très fort pouvoir réducteur, suivies par les mûres sauvages et les dattes noires arrondies (Tableau V.1). Concernant le fruit de l'arbre à fraises, nos résultats sont en concordance avec ceux trouvés par d'autres auteurs (Scalzo et al., 2005), lesquels ont présenté le classement des (AA) dans l'ordre décroissant suivant: fruits de l'arbousier >> fraises communes (six variétés) >> kiwi = pommes (cinq variétés) = abricots = pêches.

Ces trois espèces de fruits forment la première catégorie du classement avec une (AA) supérieure à 1000 mg de vitamine C/100g (m.f). En se basant sur les données de la littérature, les fortes valeurs des (AA) des baies de l'arbousier et des mûres sauvages peuvent être expliquées par leurs teneurs élevées en vitamine C ( $\approx 346$  mg/100g de masse sèche contre 14.6 mg/g de fruit sec pour les polyphénols) (Alarcao-E-Silva et al., 2001) et en polyphénols totaux ( $\approx 2000$  mg d'équivalents acide gallique (EAG) /100g MH contre 17mg/100 ml de jus pour la vitamine C) respectivement (Koyuncu, 2004).

**Tableau V.1.** Activités antioxydantes d'extraits aqueux de fruits communs et sauvages (mg de vitamine C /100g de masse fraîche)

N°	Fruit	Pelure	Pulpe	Noyau	IE	Pelure + Pulpe
1	Arbouse	1445.71 ± 72.43 <sup>b</sup>	614.53 ± 25.88 <sup>b</sup>	n.d	2	+++ 2049
2	Mûres sauvages	n.d	1115.16 ± 6.32 <sup>a</sup>	n.d	nd	+++ 1115
3	Datte noire	634.27 ± 59.33 <sup>d</sup>	457.35 ± 33.97 <sup>c</sup>	1427.49 ± 18.97 <sup>c</sup>	3	+++ 1091
4	Datte grenat n.	790.94 ± 11.37 <sup>c</sup>	192.86 ± 3.31 <sup>h</sup>	1653.25 ± 15.59 <sup>ab</sup>	9	++ 984
5	Datte grenat	741.08 ± 24.36 <sup>c</sup>	221.97 ± 1.16 <sup>gh</sup>	n.d	3	++ 962
6	Raisins noirs	815.24 ± 51.62 <sup>c</sup>	80.99 ± 8.53 <sup>kl</sup>	798.79 ± 12.22 <sup>f</sup>	10	++ 896
7	Figues noires	731.46 ± 36.49 <sup>c</sup>	87.83 ± 10.77 <sup>ijk</sup>	n.d	8	++ 819
8	Dattes D-B	449.76 ± 10.36 <sup>fg</sup>	364.21 ± 16.68 <sup>de</sup>	1729.18 ± 69.41 <sup>ab</sup>	5	++ 814
9	Coing	421.16 ± 11.06 <sup>g</sup>	374.84 ± 53.04 <sup>de</sup>	n.d	1	++ 796
10	Plaquemine	310.81 ± 8.36 <sup>hi</sup>	413.57 ± 12.64 <sup>cd</sup>	n.d	1	++ 725
11	Raisins blancs	590.48 ± 28.15 <sup>de</sup>	90.86 ± 11.87 <sup>ijk</sup>	1628.95 ± 98.77 <sup>b</sup>	18	++ 681
12	Datte jaunâtre	419.89 ± 11.93 <sup>gh</sup>	254.62 ± 23.55 <sup>fg</sup>	1713.49 ± 23.64 <sup>ab</sup>	7	++ 675
13	Olive verte f.	n.d	667.17 ± 10.20 <sup>b</sup>	152.11 ± 21.96 <sup>g</sup>	4	++ 667
14	Raisins rouges	400.40 ± 41.65 <sup>gh</sup>	100.48 ± 4.88 <sup>ijk</sup>	1751.46 ± 38.46 <sup>a</sup>	18	++ 500

15	Figue noire c.	323.97 ± 29.37 <sup>hi</sup>	97.70 ± 4.88 <sup>ijk</sup>	n.d	3	+ 419
16	Figue rouge	322.96 ± 11.91 <sup>hi</sup>	91.37 ± 7.79 <sup>ijk</sup>	n.d	4	+ 414
17	Citron	118.20 ± 6.37 <sup>j</sup>	346.75 ± 26.54 <sup>e</sup>	n.d	3	+ 347
18	Raisins Muska	249.56 ± 9.49 <sup>i</sup>	65.30 ± 5.31 <sup>kl</sup>	1388.00 ± 31.56 <sup>c</sup>	21	+ 315
19	Grenade	1742.85 ± 34.84 <sup>a</sup>	275.12 ± 12.30 <sup>i</sup>	198.68 ± 5.39 <sup>g</sup>	9	+ 275
20	Olive v.f	n.d	247.03 ± 7.61 <sup>fg</sup>	1054.42 ± 15.51 <sup>d</sup>	4	+ 247
21	Olive n.f	n.d	239.43 ± 4.88 <sup>gh</sup>	930.40 ± 26.14 <sup>e</sup>	4	+ 239
22	Figue blanche	102.76 ± 11.92 <sup>j</sup>	112.12 ± 7.68 <sup>ij</sup>	n.d	1	+ 215
23	Melon	526.96 ± 11.49 <sup>ef</sup>	136.42 ± 6.14 <sup>i</sup>	111.36 ± 8.36 <sup>g</sup>	5	+ 136
24	Orange	443.18 ± 36.02 <sup>fg</sup>	101.24 ± 0.88 <sup>ijk</sup>	n.d	4	+ 101
25	Figue de barbarie	239.69 ± 8.77 <sup>i</sup>	96.94 ± 10.31 <sup>ijk</sup>	110.86 ± 6.22 <sup>g</sup>	2	+ 97
26	Pastèque	102,51 ± 3,48 <sup>j</sup>	86,81 ± 5,06 <sup>ijk</sup>	184,3 ± 18,94 <sup>g</sup>	2	+87
27	Olive v.t.t	n.d	57.20 ± 3.75 <sup>kl</sup>	1 32.37 ± 4.58 <sup>g</sup>	2	+ 57
28	Olive t.v	n.d	30.63 ± 3.82 <sup>l</sup>	110.35 ± 9.91 <sup>g</sup>	4	- 31

n.d = non déterminé; Le nom vernaculaire, quand il est connu, est donné entre parenthèses: Datte grenat n. = Datte grenat à noyau (variété du nord non consommée); Datte grenat = Datte grenat à noyau négligeable (non consommée); Dattes D-B = Datte degla-Beida (consommé et de faible valeur marchande); Olive verte f. = Olive verte fraîche; Figue noire c. = figue noire claire (*Ajenjer*); Olive v.f = Olive violette fraîche; Olive n.f = olive noire fraîche; Olive v. t.t = olive verte de table traditionnelle (désamérisée avec les cendres de bois dans la région de Béjaia); Olive t.v = Olive de table verte désamérisée avec la soude.

Il est connu, en outre, que les fruits colorés sont riches en polyphénols. En revanche, il apparaît difficile de corrélérer, dans le cas de la datte noire, le pouvoir antioxydant avec la concentration en vitamine C et/ou en polyphénols dans la partie comestible du fruit. En effet, il a été rapporté que les dattes sont globalement pauvres en vitamine C tandis que leurs teneurs en polyphénols fluctuent considérablement d'une variété à l'autre. Il a été montré à ce sujet que les teneurs en polyphénols totaux de sept variétés de dattes cultivées en Algérie varient d'environ 2.5 à 8 mg EAG/100g (m.f) (**Mansouri, 2005**), valeur assez faible, comparée à celle des baies de l'arbousier et des mûres sauvages. Toutefois, les polyphénols analysés dans les dattes iraniennes semblent exercer une grande influence sur l'(AA) des fruits laquelle est déterminée par deux différentes méthodes (**Biglari et al., 2008**). Nous pensons que le type de molécules phénoliques, plutôt que la concentration de ces dernières, influence d'une manière conséquente les valeurs de l'(AA) tout en tenant compte du fait que des substances actives trouvées dans des extraits méthanoïques de certaines plantes présentent une faible valeur de l'(AA).

De plus, le fruit de dattes, déjà connu traditionnellement pour ses vertus médicinales (**Benchelah et Maka, 2008**) peut être une excellente source de sélénium qui est un oligoélément doté d'un pouvoir antioxydant avéré (**Al-Farsi et al., 2005**).

La deuxième catégorie de fruits présente cette caractéristique de contenir des fruits qui, même intensément colorés (raisins noirs, figue noire, olive verte fraîche, raisins rouges) montrent néanmoins un pouvoir antioxydant parfois deux fois plus faible que celui de la première catégorie. Il en est ainsi aussi du troisième groupe de fruits : figues rouges, grenade, olives noires fraîches). Notons enfin la présence dans la quatrième et dernière catégorie (AA < 50 mg de vitamine C/100g m.f) de la seule olive verte de table désamérisée avec la soude et qui voit son pouvoir antioxydant baisser plus de vingt fois par rapport à l'olive verte fraîche. Cette chute peut s'expliquer par l'action de l'alcali sur les substances actives. La valeur de l'(AA) de l'olive verte traitée avec les cendres de bois (de nature alcaline) confirme en quelques sortes cet effet négatif des pH élevés même si dans ce dernier au moins la valeur de (AA) dépasse la valeur critique de 50 mg de vitamine C que nous nous sommes fixée comme référence (teneur moyenne en vitamine C du jus d'orange).

Concernant les pelures analysées, celle de la grenade occupe incontestablement la première place (ayant une (AA) la plus élevée obtenue dans cette étude) suivie du fruit de l'arbousier, de la datte grenat à noyau et des raisins noirs. D'autres chercheurs, utilisant une autre méthode d'investigation ont déjà révélé les hautes valeurs en (AA) des dattes et des pulpes pourpres ainsi que de la pelure du grenadier (**Guo et al., 2003**). Il convient de rappeler ici que la couleur d'un fruit est influencée par la concentration et la distribution des différents anthocyanines dans leurs peaux (**Gao et Mazza, 1995**).

De tous les pépins et noyaux étudiés (dix-sept espèces), huit (dattes noires, raisins rouges, blancs et Muska , dattes jaunes, dattes grenat à noyau et dattes Degla-Beida, olives violettes fraîches) montrent une (A.A) dépassant 1000 mg vitamine C/100g (m.f). Les pépins des raisins noirs (concordance ici avec la partie comestible) et les grignons d'olives noires fraîches (par opposition à leurs parties comestibles) ont des (AA) qui les classent dans le deuxième groupe de la classification adoptée tandis que tous les autres noyaux et pépins analysés dans le présent travail figurent dans la troisième catégorie. En fait, beaucoup de travaux sont consacrés à l'(AA) d'extraits de noyaux et de pépins et tout particulièrement ceux de raisins qui sont utilisés comme ingrédients dans les suppléments diététiques et/ou dans la conservation des aliments (**Ahn et al., 2007**).

## V. 2. Pouvoir réducteur des 23 légumes étudiés

Comme on le voit la valeur sommaire (fève entière = graines + cosse) de l' (AA) des fèves dépassent très largement celles des autres légumes étudiés avec une valeur de 1582 mg Vit. C/100g (m.f) (Tableau V.2). En deuxième position viennent les haricots verts avec un pouvoir réducteur de 695 mg Vit C/100g (m.f). Suivent , le poivron rouge et la betterave avec la cardo sauvage (le chardon) avec des valeurs de l' (AA) de : 342, 303 mg Vit C/100g (m.f) respectivement.

La grande surprise au regard de ces résultats provient de la valeur de l' (AA) des cosses de fèves puisqu'elles sortent du lot en occupant seules la première catégorie G (+++). Ce résultat est en concordance avec ceux trouvés par **Okada et al.(1998)** lesquels ont utilisé un extrait méthanolique ainsi que d'autres tests de mesure de l'activité antioxydante. Les fèves sont connues pour être riches en polyphénols (**Randhir et al., 2004**) ce qui peut expliquer leur fort pouvoir réducteur. En effet, une des propriétés principales des polyphénols est leur activité antiradicalaire elle même attribuée à leurs groupes hydroxyls qui contribuent à leurs propriétés redox, capacité donatrice d'hydrogène, action anti oxygène singlet ainsi que la capacité de chélation de métaux (**Rice-Evans et al. 1997**).

Etudiant l'effet de la température sur la teneur en polyphénols et sur l'activité antioxydante des pousses et des semis de quelques légumes dont les fèves, **Randhir et al. (2009)** ont remarqué un impact généralement positif. Se traduisant par une élévation de ces deux paramètres.

Ce légume, connu pour être vital dans l'alimentation traditionnelle de beaucoup de peuples (méditerranéen, Inde, Chine, Anglais, Moyen Orient, Afrique et Amérique du sud) contient dans ses semis, ses cosses verts et ses graines la L-DOPA qui est le précurseur du neurotransmetteur « la dopamine » (**Randhir et al., 2002**). Il y a d'ailleurs beaucoup de recherches consacrées à l'amélioration de la production par les fèves des métabolites secondaires comme les polyphénols et la L-DOPA en utilisant des éliciteurs naturels. De plus, les propriétés antioxydantes de la L-DOPA ont déjà été soulignées (**Olanow, 1992**). De leur côté, étudiant la synthèse des polyphénols totaux, de la L-DOPA et de l'activité antioxydante dans les fèves en germination, **Shetty et al. (2003)** ont trouvé que les résultats relatifs à l'activité antioxydante étaient peu concluantes et ils ont suggéré de prendre en compte les antioxydants phénoliques hydrosolubles.

**Tableau V.2.** Activités antioxydantes d'extraits aqueux de légumes communs et sauvage (mg de vitamine C /100g de masse fraîche)

N°	Légumes	Pelure	Pulpe	Grain	Tige	Feuille	IE	Partie comestible
1	Fève	1291,82±18,12 <sup>a</sup>		290,31±9,61 <sup>b</sup>			4	+++1582
2	Haricot vert	54,42±5,06 <sup>g</sup>		640,09±24,64 <sup>a</sup>			12	++695
3	Poivron rouge		342,70±21,26 <sup>a</sup>	131,11±1,91 <sup>c</sup>			3	+343
4	Betterave	614,27±27,91 <sup>b</sup>	303,47±13,07 <sup>b</sup>				2	+303
5	Chou fleur		97,19±17,11 <sup>ef</sup>		107,31±15,08 <sup>b</sup>		1	+205
6	Poivron vert		193,37±18,23 <sup>c</sup>	127,06±1,16 <sup>c</sup>			2	+193
7	Chou vert				38,98±4,18 <sup>d</sup>	163,50±2,44 <sup>c</sup>	4	+164
8	Blette				110,86±3,31 <sup>b</sup>	163,25±6,75 <sup>c</sup>	1	+163
9	Ail		147,05±9,55 <sup>d</sup>				nd	+147
10	Concombre	60,24±3,16 <sup>g</sup>	54,67±4,98 <sup>g</sup>	86,05±7,22 <sup>e</sup>			2	+141
11	Aubergine	141,99± 5,48 <sup>e</sup>	113,90 ±4,98 <sup>e</sup>				1	+114
12	Oignon		105,29±6,55 <sup>e</sup>				nd	+105

13	Fenouil		103,01±12,01 <sup>e</sup>		79,47±8,80 <sup>c</sup>		1	+103
14	Tomate	178,69±3,90 <sup>d</sup>	101,49±14,53 <sup>e</sup>	105,29±4,18 <sup>cde</sup>			2	+101
15	Artichaut		99,72±1,58 <sup>ef</sup>			129,84±22,64 <sup>c</sup>	1	+100
16	Cardon				96,18±7,06 <sup>bc</sup>	386,99±10,03 <sup>a</sup>	4	+96
17	Petit pois	63,28±7,30 <sup>g</sup>		88,84±7,89 <sup>de</sup>			1	+89
18	Chardon				72,89±6,07 <sup>c</sup>	230,32±16,85 <sup>b</sup>	3	+73
19	Navet	120,22±16,54 <sup>ef</sup>	68,84±5,75 <sup>fg</sup>		154,64±9,67 <sup>a</sup>	364,72±26,81 <sup>a</sup>	5	+69
20	Pomme de terre	309,79±2,28 <sup>c</sup>	68,08±0,44 <sup>fg</sup>				5	+68
21	Courgette	137,43±8,95 <sup>e</sup>	63,02±2,01 <sup>g</sup>				2	+63
22	Carotte	87,07±6,89 <sup>fg</sup>	59,73± 2,19 <sup>g</sup>				2	+60
23	Citrouille	88,84±6,22 <sup>fg</sup>	59,23±2,01 <sup>g</sup>	117,44±11,27 <sup>cd</sup>			2	+59

Les résultats concernant les haricots verts sont en concordance avec ceux trouvés par **Bolling et al. (2007)** (tout en tenant compte de la différence des procédures appliquées pour la mesure du pouvoir réducteur) qui ont abouti au classement suivant des essais de quantification du pouvoir antioxydant : pouvoir réducteur (réduction du radical cation  $ABTS^{\cdot+}$ ) > capacité d'absorbance du radical peroxy > activité antioxydante totale .

Le poivron rouge doux est un autre cas qui suscite un intérêt nutritionnel. La couleur rouge du poivron rouge est déterminée par les caroténoïdes: capsanthine, capsorubine et xanthophylle (**Ittah et al., 1993**). Pourtant, rien qu'à observer les habitudes des consommateurs, ces derniers se détournent généralement des poivrons rouges comme si cette belle couleur vive est un signe d'altération. Or, à observer les résultats obtenus il est aisé de noter que le pouvoir réducteur des poivrons rouges doux est de 1.8 fois supérieur à celui des poivrons verts. Il a été déjà relevé que le poivron rouge figure parmi les légumes les plus riches en substances antioxydantes et qu'il est apprécié surtout pour sa teneur en vitamine C (144 mg/100 g) et en cryptoxantine (**Sikora et al., 2008 ; Marin et al., 2004**). De plus, **Perucka et Materska (2007)** ont rapporté que le poivron doux est moins riche en  $\beta$ -carotène et en vitamine E que le poivre piquant mais il se caractérise par une teneur en polyphénols et des propriétés antioxydantes plus élevées.

L'action anticancer des betteraves serait due aux betalaines (**Kujala et al., 2002**) dont on distingue les betacyanines (rouges) et les betaxanthines (jaunes), les deux substances étant utilisées comme additifs naturels alimentaires et ils sont dotés d'un puissant pouvoir antiradicalaire (**Pavlov et al., 2002**).

Comme nous l'avons souligné précédemment, nous n'avons pas trouvé aucune donnée sur le chardon. Toutefois, les légumes verts sauvages, particulièrement importants comme aliments locaux, sont connus pour être des éléments constitutifs des traditions alimentaires méditerranéennes (**Nebel et al., 2006**).

### V.3. Pouvoir réducteur des 6 plantes étudiées

Selon **Duh et al. (1997)**, le pouvoir réducteur a une corrélation positive avec les propriétés antioxydantes. Concernant la procédure d'extraction et comme il a été noté précédemment plusieurs méthodes, celle décrite ici y est incluse, basées sur l'extraction avec l'eau comme solvant ont été appliquées par plusieurs auteurs. Comparée à toutes les plantes analysées, la lavande (*Lavandula angustifolia*) montre une valeur de l'(AA) globale la plus élevée. Il en est de même pour ses feuilles comparativement à celles des autres espèces (Tableau V.3). La menthe pouliot et l'origan occupent la seconde et la quatrième place respectivement. Ces résultats sont en concordance avec ceux publiés par certains auteurs concernant la famille des *Lamiacées* (**Dorman et al., 2004; Capecka et al., 2005; Buricova et Réblova, 2007**) bien que les méthodes analytiques de quantification du pouvoir antioxydant appliquée sont différentes.

De toutes les feuilles étudiées, seules celles des lavandes et du laurier présentent des valeurs de l' (AA) significativement différentes ( $p < 0.05$ ). En revanche, aucune différence significative n'est observée entre les valeurs de l' (AA) des six espèces de tiges. La même observation est valable en comparant les fleurs de et les fruits du myrte.

A ce propos, il a été déjà rapporté que (**Dapkevicius et al., 1998; Miliuskas et al., 2004**):

- 1) la lavande contient différents composés bioactifs (polyphénols, anthocyanines, caroténoïdes), substances connues en tant qu'antioxydants agissant positivement sur le corps humain;
- 2) peu d'informations sur les propriétés antioxydantes de cette plante est disponible dans la littérature.

Même si le potentiel antioxydant des plantes médicinales est en corrélation avec les teneurs en polyphénols de leurs extraits (**Cetkovic et al., 2004**), nous partageons l'idée souvent avancée et selon laquelle la structure de ces molécules, plutôt que leurs concentrations exerce une influence considérable sur l'expression de l'activité antioxydante des extraits de plantes. De plus, les différentes conditions de culture jouent un rôle décisif dans l'accumulation des substances antioxydantes dans une plante. En effet, investiguant l'effet de la dose d'azote sur l'activité antioxydante de la lavande, **Biesiada et al. (2008)** ont trouvé que cette activité est plus élevée au niveau des fleurs lorsque le traitement aux engrais est réalisé à de faibles doses d'azote, contrairement aux feuilles pour qui un traitement plus intense paraît plus favorable en terme d'activité antioxydante.

**Tableaux V.3.** Activités antioxydantes d'extraits aqueux des plantes médicinales (mg de vitamine C /100g de masse sèche)

N°	Plantes	Feuille	Tige	Fleur ou Fruit	IE	Totale
1	Lavande	1668,44± 78,71 <sup>a</sup>	1592,00±84,09 <sup>a</sup>	1650,22± 25,15 <sup>a</sup>	1	+++4911
2	Menthe pouliot	1565,17±75,03 <sup>ab</sup>	1553,02±49,68 <sup>a</sup>	1588,46±68,20 <sup>ab</sup>	1	+++4707
3	Myrte	1597,57±9,24 <sup>ab</sup>	1564,67±93,99 <sup>a</sup>	1462,92±79,41 <sup>b</sup>	1	+++4625
4	Origan	1557,07±37,70 <sup>ab</sup>	1497,34±92,71 <sup>a</sup>	n.d	1	+++3054
5	Armoise	1526,70±57,47 <sup>ab</sup>	1473,04±46,09 <sup>a</sup>	n.d	1	+++3000
6	Laurier	1463,43±37,64 <sup>b</sup>	1407,74±33,82 <sup>a</sup>	n.d	1	+++2871

### V.3.1. Effet du temps sur le pouvoir réducteur des feuilles de myrte et de la lavande à 100 °C

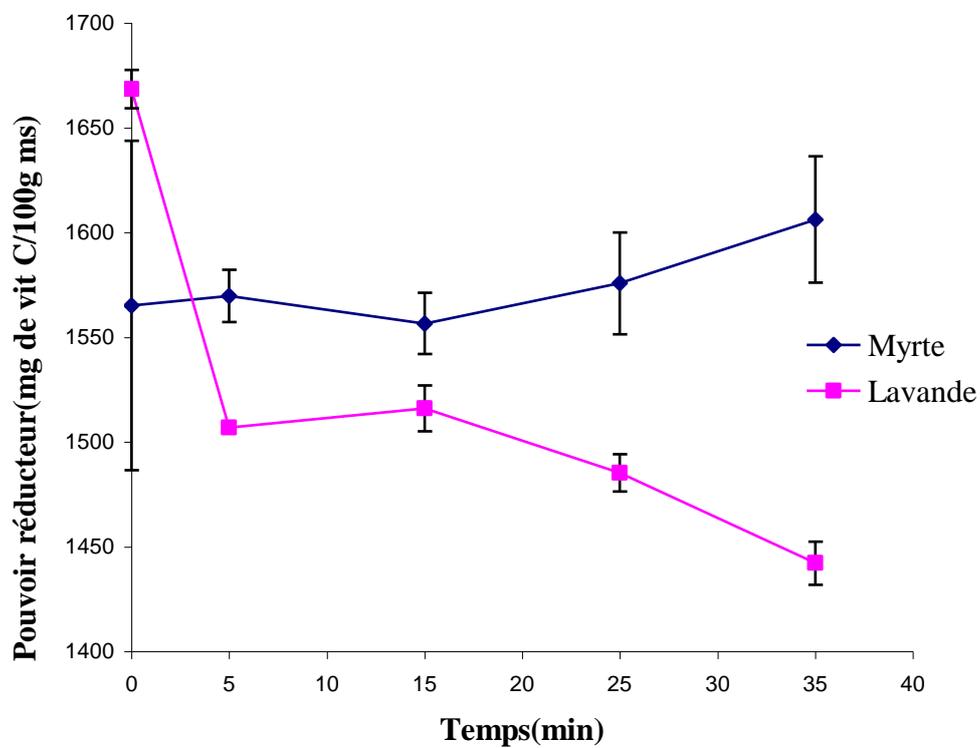
Pour ce qui est de l'effet de la température, les résultats obtenus montrent que contrairement au myrte, les valeurs initiales de AA de la lavande baisse d'une manière fulgurante après un traitement de 5 min à 100°C (Figure V.2). Au delà de cet intervalle il n'ya plus de différence significative entre les valeurs obtenues. Certains de ces résultats sont conformes à ceux trouvés par **Rapavi et al.(2006)** qui ont démontré que les paramètres redox des extraits aqueux des thés de Chine, après une infusion à 90-100°C, ne changent pas d'une manière considérable durant 15 et 120 min de traitement.

**Tableau V.4.** Evolution du pouvoir réducteur (mg vit C/100g de ms) en fonction du temps à 100°C. Cas du myrte

Temps	1 <sup>er</sup> essai	2 <sup>eme</sup> essai	3 <sup>eme</sup> essai	Moyenne± écart type
0 minute	1591,50	1608,2	1593,01	1597,57±9,24 <sup>ab</sup>
5 minutes	1571,75	1570,24	1567,20	1569,73±2,32 <sup>c</sup>
15 minutes	1565,68	1559,61	1544,42	1556,57±10,95 <sup>c</sup>
25 minutes	1579,35	1565,68	1582,38	1575,8±8,90 <sup>bc</sup>
35 minutes	1609,72	1614,27	1594,53	1606,18±10,34 <sup>a</sup>

**Tableau V.5.** Evolution du pouvoir réducteur (mg vit C/100g de ms) en fonction du temps à 100°C. Cas de la lavande.

Temps	1 <sup>er</sup> essai	2 <sup>eme</sup> essai	3 <sup>eme</sup> essai	Moyenne± écart type
0 minute	1652,24	1753,99	1599,09	1668,44±78,71 <sup>a</sup>
5 minutes	1512,53	1515,57	1492,79	1506,96±12,37 <sup>b</sup>
15 minutes	1529,23	1518,60	1500,38	1516,07±14,59 <sup>b</sup>
25 minutes	1460,90	1509,49	1485,19	1485,19±24,30 <sup>b</sup>
35 minutes	1448,75	1409,26	1468,49	1442,17±30,16 <sup>b</sup>



**Figure V.2.** Evolution du pouvoir réducteur en fonction du temps à 100°C .Cas des feuilles du myrte et de la lavande.

#### V.4. Effet synergique (ES)

##### V.4.1. Cas des extraits aqueux de pelures de trois fruits : arbouise, raisins noirs et dattes grenat à noyau

Les figures V.3 et V.4 montrent respectivement les (AA) absolues et les (ES) des extraits aqueux obtenus à partir des pelures de fruits de l'arbousier, des raisins noirs et des dattes grenats à noyau. Un effet synergique est observé pour toutes les combinaisons étudiées. Les valeurs de (ES) trouvées peuvent être rangées dans l'ordre décroissant suivant: datte grenat à noyau/ raisins noirs ( $2.24 \pm 0.11$ ) > fruit d'arbousier/ raisins noirs ( $1.74 \pm 0.07$ ) > fruit d'arbousier/raisins noirs/dattes grenat à noyau ( $1.45 \pm 0.05$ ) > dattes grenat à noyau/fruit d'arbousier ( $1.29 \pm 0.04$ ). Il est aisé de relever à partir de la figure V.3 qu'il n'existe pas de différence significative ( $p < 0,05$ ) entre les (AA) des extraits individuels issus des dattes grenat à noyau et des raisins noirs mais elles sont significativement différentes, comparées à celles de leur mélange. Il n'y a pas toutefois de différence significative entre les (AA) des extraits des peaux de fruits de l'arbousier et les deux mélanges : dattes grenat à noyau/fruits de l'arbousier et fruits de l'arbousier /dattes noires/dattes grenat à noyau. Il est possible de noter à partir des figures V.3 et V.4 une assez bonne corrélation entre les (AA) absolues et les (ES) des extraits des pelures analysés.

Les différences observées dans les valeurs absolues des (AA) et des (ES) peuvent être attribuées aux différences de composition qualitative et quantitative en polyphénols. Le mécanisme d'action de ces derniers est en effet essentiellement attribué à la chélation des ions métalliques (Iwahashi, 2000). A cela s'ajoute le fait que l'action synergique entre différents antioxydants est très complexe car chaque molécule antioxydante est en mesure de devenir un agent prooxydant (Pince mail et Defraigne, 2004).

**Tableau V.6.** Activité antioxydante des mélanges de peau de fruit (valeurs expérimentales) en mg de vitamine C /100g de masse fraîche

Peaux de fruits	1 <sup>er</sup> essai	2 <sup>eme</sup> essai	3 <sup>eme</sup> essai	Moyenne ± écart type
Arbouise/datte du nord	1460,90	1413,82	1447,23	1440,65 ± 24,22
Arbouise /raisin noir	1913,44	1989,37	1983,30	1962,03 ± 42,19
Datte du nord /raisin	1828,40	1808,66	1758,54	1798,53 ± 36,01
Datte du nord / arbouise /raisin noir	1378,89	1497,34	1489,75	1455,33 ± 66,30

**Tableau V.7.** Activité antioxydante des mélanges de peau de fruit (valeurs calculées) en mg de vitamine C /100g de masse fraîche

Peaux de fruits	1 <sup>er</sup> essai	2 <sup>ème</sup> essai	3 <sup>ème</sup> essai	Moyenne± écart type
Arbouse/datte sauvage	1100,23	1093,01	1161,73	1118,32±37,76
Arbouse /raisin noir	1079,35	1117,69	1194,38	1130,47±58,57
Datte sauvage /raisin noir	779,42	802,96	826,88	803,09±23,73
Datte sauvage / arbouse /raisin noir	976,47	994,51	1050,39	1007,12±38,54

**Tableau V.8.** Effet synergique des extraits de peau de fruit (mg de vitamine C /100g de masse fraîche)

Peaux de fruits	1 <sup>er</sup> essai	2 <sup>ème</sup> essai	3 <sup>ème</sup> essai	Moyenne± écart type
Datte sauvage /raisin noir	2,35	2,25	2,13	2,24±0,11 <sup>a</sup>
Arbouse /raisin noir	1,77	1,78	1,66	1,74±0,07 <sup>b</sup>
Arbouse/datte sauvage	1,33	1,29	1,25	1,29±0,04 <sup>c</sup>
Datte sauvage / arbouse /raisin noir	1,41	1,51	1,42	1,45±0,05 <sup>c</sup>

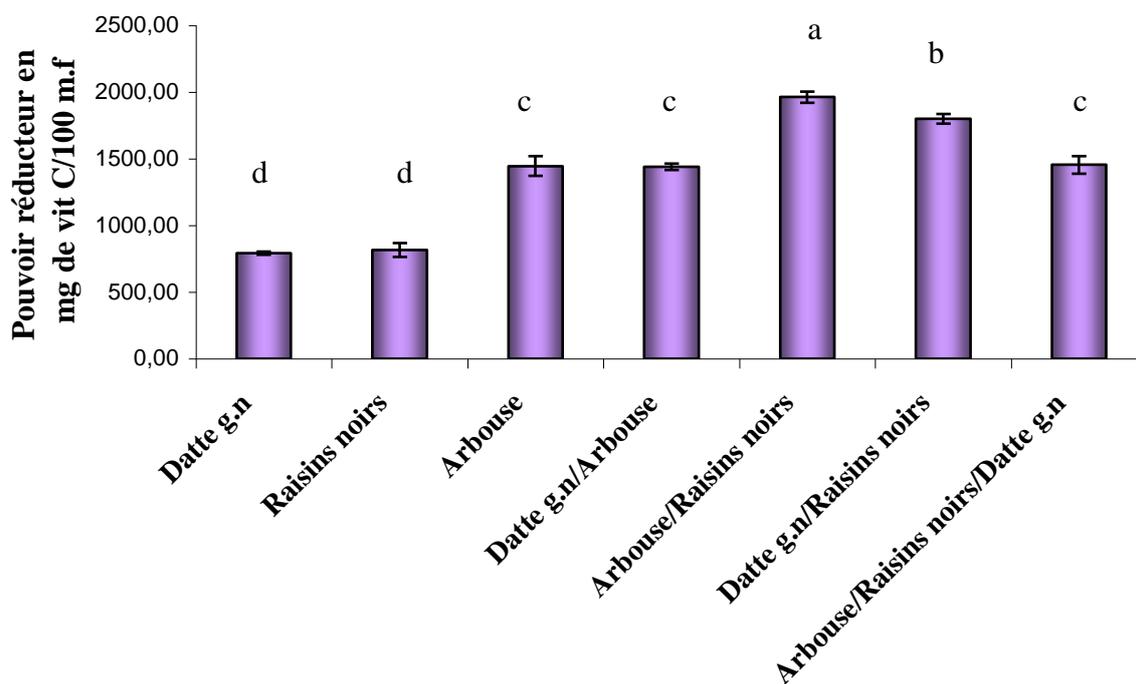


Figure V.3. Pouvoir réducteur des extraits aqueux de peau de fruit

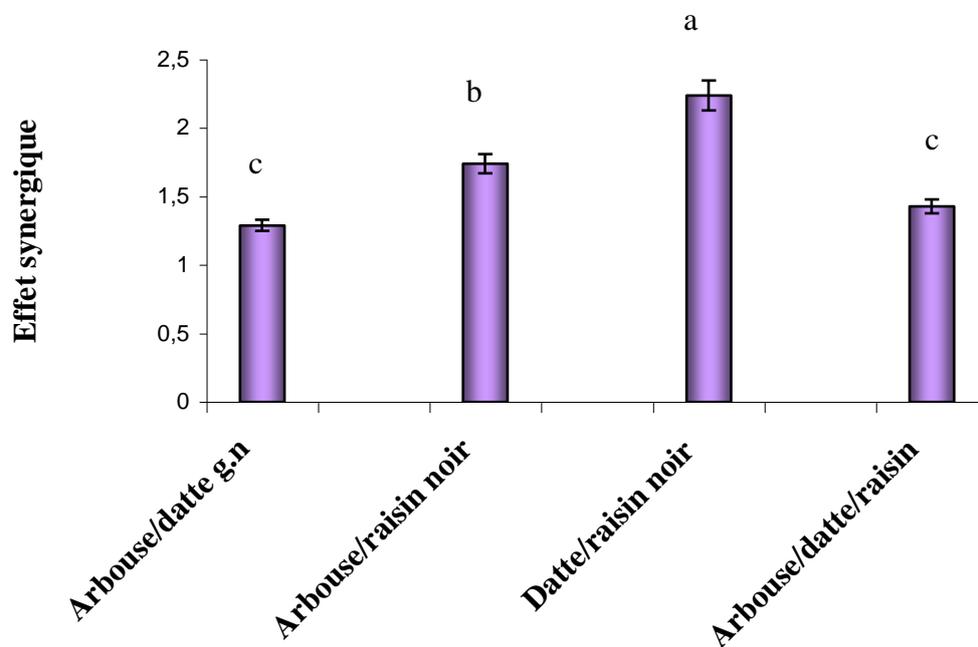


Figure V.4. Effet synergique des extraits de quelques peaux de fruits

## V.4. 2. Cas des extraits aqueux de quelques légumes commun

### V.4.2.1. Combinaison de 3 extraits aqueux

L'effet synergique est un indice auquel on fait souvent appel pour rendre compte de la présence éventuelle d'additivité concernant les activités antioxydantes des composants d'un mélange de plantes. Le cas échéant, on sera amené à conclure sur l'absence ou même l'antagonisme des activités des constituants du mélange considéré. C'est ainsi par exemple que **Ahn et al. (2007)** ont montré que le pouvoir antioxydant issu d'une combinaison d'extraits naturels de certaines plantes est plus élevé que celui des extraits individuels, concluant ainsi sur la présence d'un effet synergique.

Les résultats obtenus sont donnés dans les tableaux V.9, V.10 et V.11 et figure V.5. Le résultat le plus important à tirer est la présence d'une antagonisme car ES est  $<$  à 1 (Figure V.6).

**Tableau V.9.** Activité antioxydante des mélanges de quelques légume (valeurs expérimentales) en mg de vitamine C /100g de masse fraîche

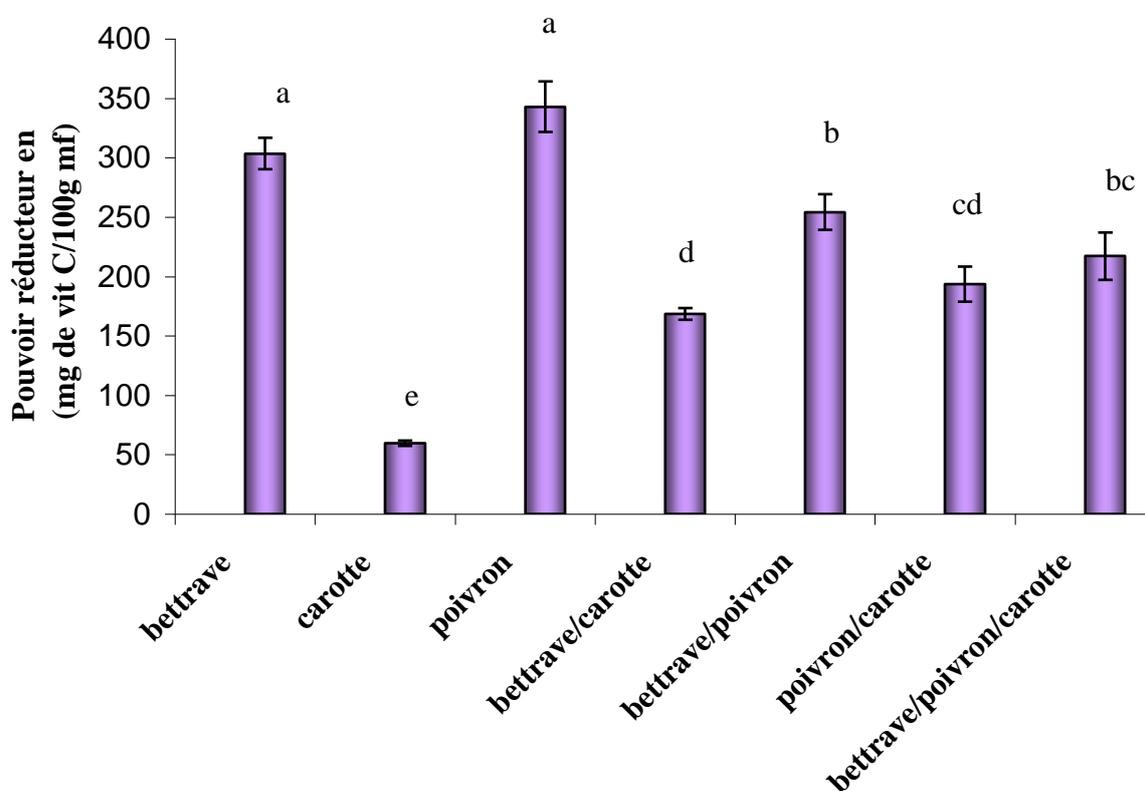
Légumes (pulpe)	1 <sup>er</sup> essai	2 <sup>eme</sup> essai	3 <sup>eme</sup> essai	Moyenne± écart type
Betterave/carotte	168,56	173,12	163,25	168,31± 4,94
Betterave/poivron	238,42	268,03	255,88	254,11 ± 14,89
Poivron/carotte	182,99	210,33	186,79	193,37±14,81
Betterave/poivron/carotte	211,85	239,18	200,46	217,16 ± 19,90

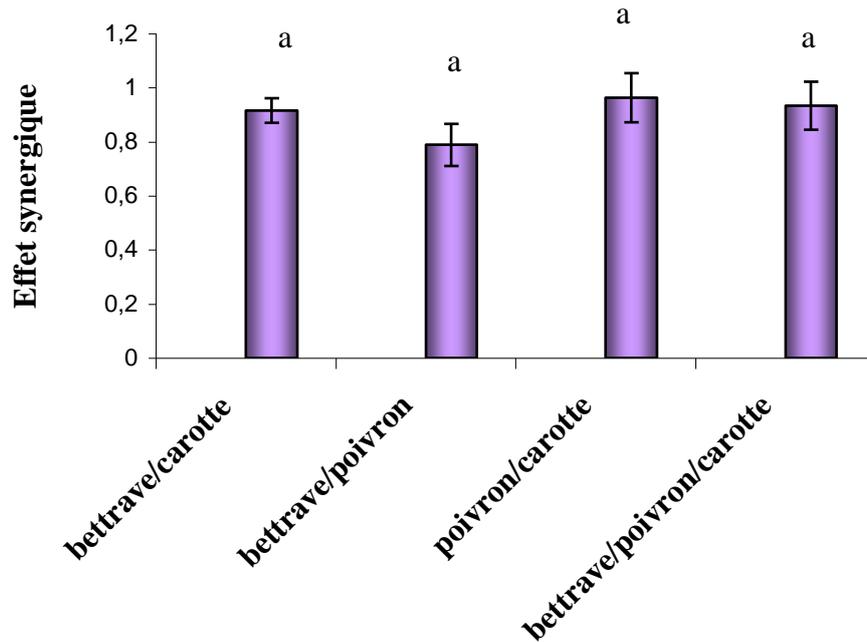
**Tableau V.10.** Activité antioxydante des mélanges de légume (valeurs calculées) en mg de vitamine C /100g de masse fraîche

Légumes (pulpe)	1 <sup>er</sup> essai	2 <sup>eme</sup> essai	3 <sup>eme</sup> essai	Moyenne± écart type
Betterave/carotte	188,31	178,82	184,388	183,84± 4,77
Betterave/poivron	340,93	321,18	307,14	323,08±16,97
Poivron/carotte	211,09	200,84	191,72	201,21 ± 9,69
Betterave/poivron/carotte	244,31	231,28	223,26	232,95 ± 10,62

**Tableau V.11.** Effet synergique des extraits de légume (pulpe)

Légumes (pulpe)	1 <sup>er</sup> essai	2 <sup>eme</sup> essai	3 <sup>eme</sup> essai	Moyenne ± ecartype
Betterave/carotte	0,90	0,97	0,89	0,92 ± 0,05 <sup>a</sup>
Betterave/poivron	0,70	0,83	0,83	0,79 ± 0,08 <sup>a</sup>
Poivron/carotte	0,87	1,05	0,97	0,96 ± 0,09 <sup>a</sup>
Betterave/poivron/carotte	0,87	1,03	0,90	0,93 ± 0,09 <sup>a</sup>

**Figure V.5.** Pouvoir réducteur de trois extraits aqueux de légumes (pulpe)



**Figure V.6.** Effet synergique de trois extraits aqueux de légumes (pulpe)

#### V.4.2.2. Combinaison de 4 extraits aqueux

Suite aux résultats précédents (mélange tertiaire avec un ES < à 1) nous avons tenté un autre mélange quaternaire en incluant cette fois les cosses de fèves (Tableau V.12).

Dans cette étude, Il y a lieu de souligner d'abord l'existence d'une différence significative ( $p < 0.05$ ) entre les valeurs de l'(AA) des extraits de cosses de fèves et ceux de tous les autres mélanges étudiés (Figure V.7). D'autre part, deux types de mélanges d'extraits montrent un ES le plus élevé (~ 2): cosses de fèves/carottes/betterave et cosses de fèves/carottes/poivron rouge doux. Mais il n'y a pas de différence significative entre ces deux mélanges (Figure V.8). En fait il convient de rappeler que de tous les 23 légumes analysés, les cosses de fèves montrent un pouvoir réducteur le plus élevé d'où son possible effet « amplificateur/améliorant » du pouvoir réducteur dans les diverses combinaisons.

**Tableau V.12.** Activité antioxydante des mélanges de légume (pulpe) avec pelure de fève (valeurs expérimentales) en mg de vitamine C /100g de masse fraîche

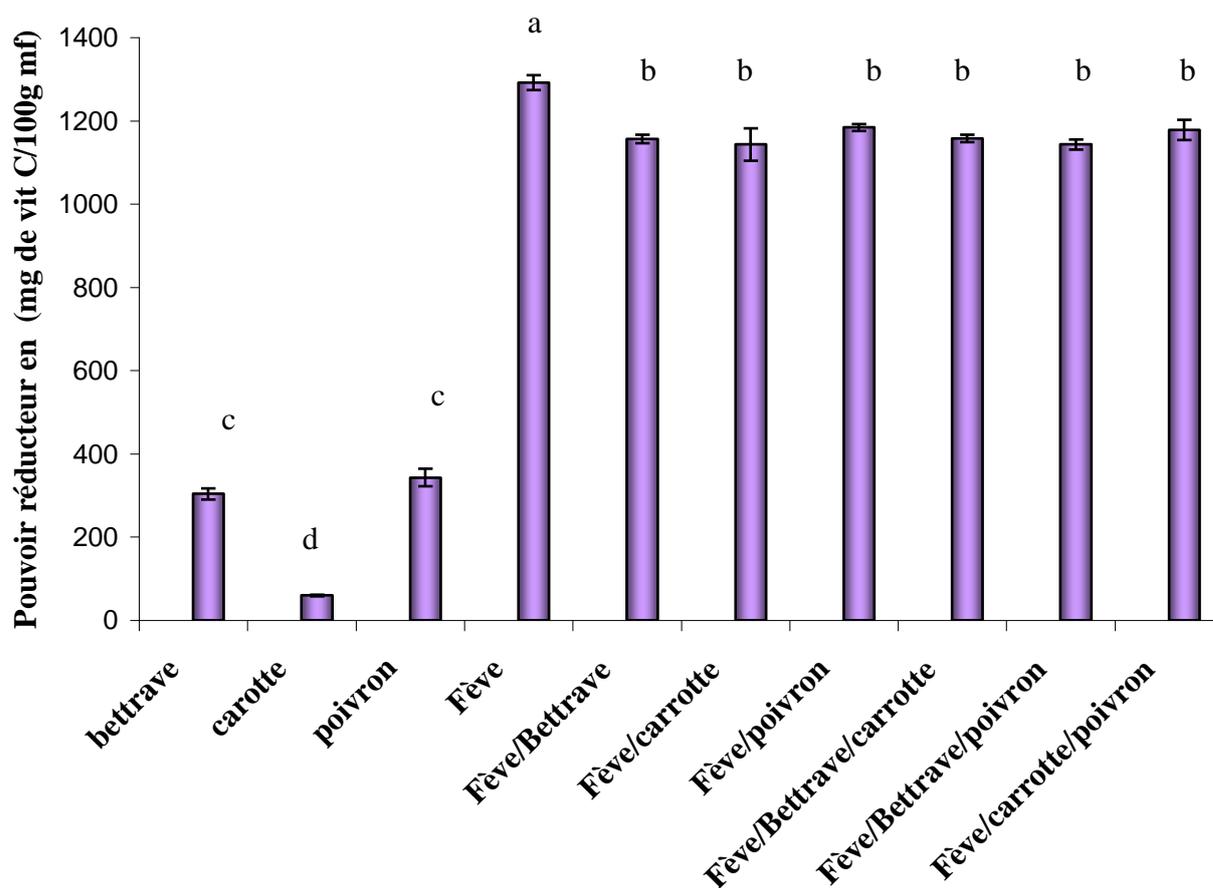
Légumes	1 <sup>er</sup> essai	2 <sup>eme</sup> essai	3 <sup>eme</sup> essai	Moyenne± écart type
Fève/Betterave	1155,66	1146,55	1166,29	1156,16 ± 9,88
Fève/carotte	1182,99	1105,54	1140,47	1143,00± 38,79
Fève/poivron	1193,62	1179,95	1176,92	1183,50 ± 8,90
Fève/Betterave/carotte	1167,81	1152,62	1152,62	1157,68 ±8,77
Fève/Betterave/poivron	1141,99	1155,66	1131,36	1143,00±12,18
Fève/carotte/poivron	1151,10	1199,70	1181,47	1177,42±24,55

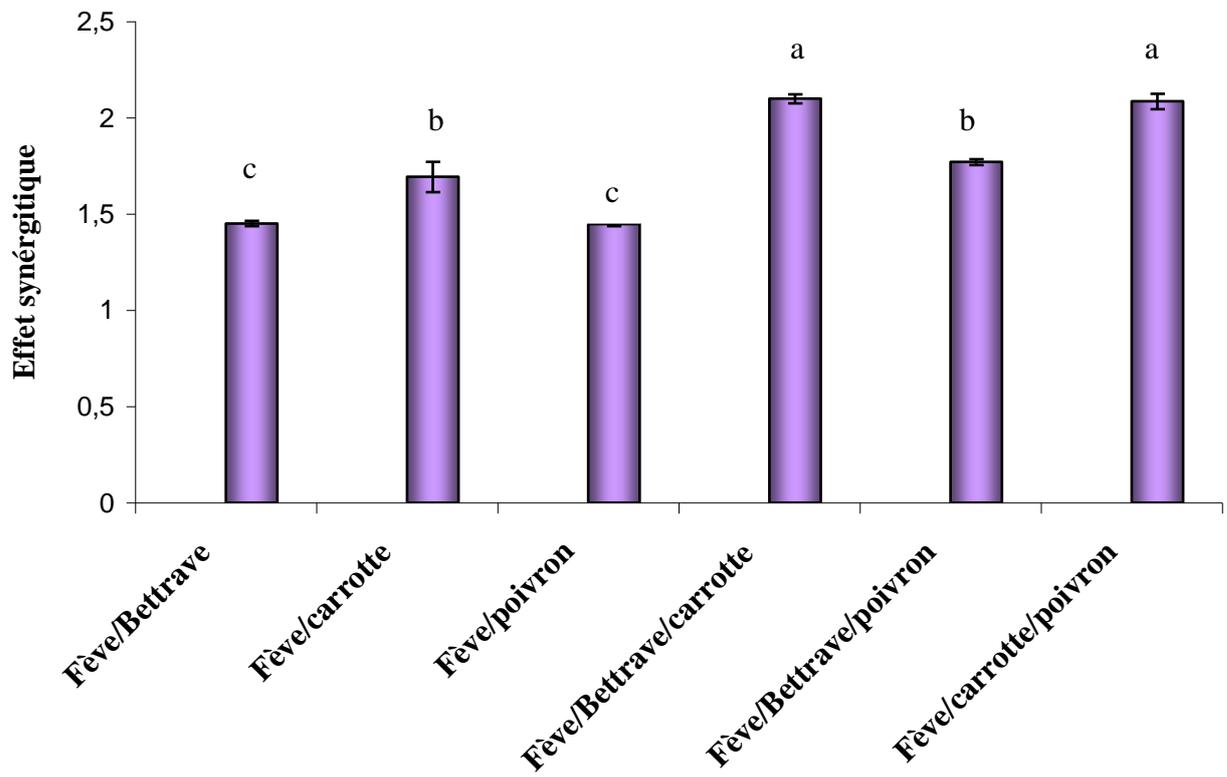
**Tableau V.13.** Activité antioxydante des mélanges de légume (pulpe) avec pelure de fève (valeurs calculées) en mg de vitamine C /100g de masse fraîche

Légumes	1 <sup>er</sup> essai	2 <sup>eme</sup> essai	3 <sup>eme</sup> essai	Moyenne± ecartype
Fève/Betterave	794,61	799,54	798,79	797,65 ± 2,66
Fève/carotte	664,77	679,20	683,37	675,78 ±9,76
Fève/poivron	817,39	821,56	812,83	817,26 ± 4,37
Fève/Betterave/carotte	549,23	552,52	553,28	551,67 ± 2,15
Fève/Betterave/poivron	650,97	647,43	639,58	646,00± 5,83
Fève/carotte/poivron	564,41	567,20	562,64	564,75±2,30

**Tableau V.14.** Effet synergique des extraits de légume (pulpe) avec pelure de fève

Légumes	1 <sup>er</sup> essai	2 <sup>eme</sup> essai	3 <sup>eme</sup> essai	Moyenne± écart type
Fève/Betterave	1,45	1,43	1,46	1,45 ± 0,01 <sup>c</sup>
Fève/carotte	1,78	1,63	1,67	1,69 ± 0,08 <sup>b</sup>
Fève/poivron	1,46	1,44	1,45	1,45±0,01 <sup>c</sup>
Fève/Betterave/carotte	2,13	2,09	2,08	2,10±0,02 <sup>a</sup>
Fève/Betterave/poivron	1,75	1,78	1,77	1,77±0,02 <sup>b</sup>
Fève/carotte/poivron	2,04	2,12	2,10	2,08±0,04 <sup>a</sup>

**Figure V.7.** Pouvoir réducteur de quatre extraits aqueux de légumes : trois pulpes + pelure de fève



**Figure V.8.** Effet synergique de quatre extraits aqueux de légumes : trois pulpes + pelure de fève

### V.4.3. Cas des extraits aqueux de 3 types de (feuilles) de plantes médicinales: Myrte, Menthe pouliot et Origan

La figure V.9 montre les valeurs absolues de l'(AA) des extraits aqueux et des mélanges d'extraits de feuilles de quelques plantes étudiées (myrte, menthe pouliot et origan). Comme on le voit, le mélange obtenu à partir d'extraits de trois espèces de feuilles se caractérise par une valeur plus élevée de AA par comparaison aux valeurs trouvées pour les extraits individuels et/ou issus de mélanges de deux extraits différents. La valeur de ES relative à ce mélange tri-composé augmente d'une manière notable, confirmant ainsi l'effet synergique résultant de l'association de plantes (Figure V.10). Ce résultat révèle ainsi l'intérêt, du point de vue santé, qu'il y a à consommer des breuvages élaborés par association de différentes plantes. **Ekstrom et al. (2000)** ont montré qu'une prise parallèle élevée de l'acide ascorbique, du bêta-carotène et de l'  $\alpha$ -tocophérol réduit le risque de cancer gastrique plus significativement qu'une prise séparée de ces antioxydants. En plus, il a été établi que l'association de vitamine E et de plantes montre une activité antioxydante beaucoup plus élevée que celle de chacun des éléments de ce complexe pris individuellement (**EP 1902631**).

**Tableau V.15.** Activité antioxydante des mélanges de feuille de plante (valeurs expérimentales) en mg de vitamine C /100g de masse sèche

Feuille de plante	1 <sup>er</sup> essai	2 <sup>ème</sup> essai	3 <sup>ème</sup> essai	Moyenne $\pm$ ecartype
Myrte/Origan	1634,02	1749,43	1728,17	1703,87 $\pm$ 61,42
Myrte/Menthe pouliot	1684,13	1835,99	1760,06	1760,06 $\pm$ 75,93
Origan/ Menthe pouliot	1617,31	1775,25	1717,54	1703,37 $\pm$ 79,92
Myrte/Menthe pouliot/ Origan	2553,53	2485,19	2548,97	2529,23 $\pm$ 9,73

**Tableau V.16.** Activité antioxydante des mélanges de feuille de plante (valeurs calculées) en mg de vitamine C /100g de masse sèche

<b>Feuille de plante</b>	<b>1<sup>er</sup> essai</b>	<b>2<sup>eme</sup> essai</b>	<b>3<sup>eme</sup> essai</b>	<b>Moyenne± ecartype</b>
Myrte/Origan	1538,34	1592,26	1613,52	1581,37±38,75
Myrte/Menthe pouliot	1596,05	1571,75	1564,16	1577,32±16,66
Origan/ Menthe pouliot	1542,90	1555,81	1584,66	1561,12±21,38
Myrte/Menthe pouliot/ Origan	1559,10	1573,27	1587,45	1573,27±14,17

**Tableau V.17.** Effet synergique des extraits de feuille de plante

<b>Feuille de plante</b>	<b>1<sup>er</sup> essai</b>	<b>2<sup>eme</sup> essai</b>	<b>3<sup>eme</sup> essai</b>	<b>Moyenne± ecartype</b>
Myrte/Origan	1,02	1,11	1,10	1,08±0,05 <sup>b</sup>
Myrte/Menthe pouliot	1,09	1,15	1,09	1,11±0,03 <sup>b</sup>
Origan/ Menthe pouliot	1,05	1,14	1,08	1,09±0,05 <sup>b</sup>
Myrte/Menthe pouliot/ Origan	1,64	1,58	1,61	1,61±0,03 <sup>a</sup>

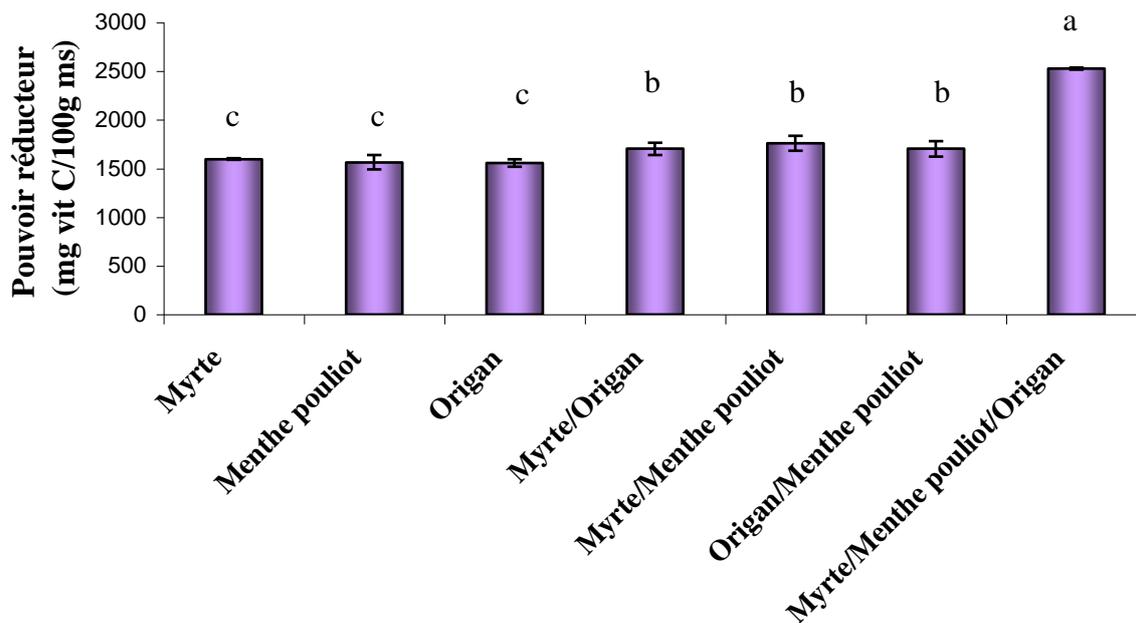


Figure V.9. Pouvoir réducteur de trois extraits aqueux de feuilles de plantes médicinales

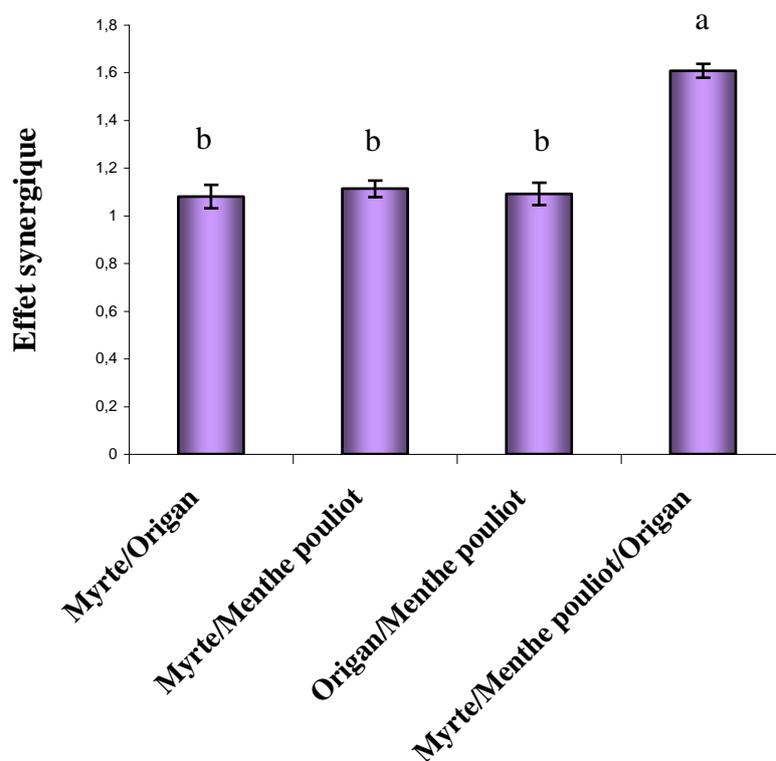


Figure V.10. Effet synergique de trois extraits aqueux de feuilles de plantes médicinales

### V.5. Indice d'hétérogénéité (IH)

Pour ce paramètre (IH), les valeurs volontairement arrondies varient considérablement d'un fruit à un autre. C'est dire l'intérêt qu'il y'a à valoriser les déchets issus des transformations agroalimentaires constitués le plus souvent de la peau et des pépins et/ou noyaux. A titre d'exemple, de toutes les variétés de figues étudiées, les noires ont un (IH) de 8, soit, dans certains cas, huit fois plus élevé que pour les autres variétés de figues. Nous comprenons mieux pourquoi dans la région de Kabylie tout particulièrement, la consommation de figues noires trempées dans l'huile d'olive est généralement admise comme diète.

Pour l'ensemble des légumes étudiés, les valeurs de (IH) varient de 1 à 12 (seul l'haricot vert présente cette dernière valeur). D'une manière générale il y a hétérogénéité dans la répartition des substances réductrices dans les fruits et légumes. Cette hétérogénéité est beaucoup plus prononcée dans le cas des fruits lorsque les pépins sont pris en compte. Les valeurs les plus élevées sont rencontrées dans le cas des raisins : 21 (raisins musqua), 18 (raisins blancs et rouges). Mais l'IH ne dépasse pas la valeur 8 (trouvée pour les figues noires) lorsque le noyau (ou les pépins) ne sont pas pris en considération. Cet indice montre l'intérêt à consommer sinon à valoriser toutes les parties composant les fruits et les légumes.

Concernant toujours le paramètre IH, les valeurs trouvées révèlent une uniformité de répartition des substances réductrices à l'intérieur de chaque plante médicinale considérée. De ce point de vue, les plantes médicinales diffèrent beaucoup des fruits et légumes puisque certains de ces derniers présentent des valeurs de IH dépassant largement le chiffre 10.

## V.6. Contribution des polyphénols, de l'acide ascorbique et des caraténoides à l'expression du pouvoir réducteur de 13 espèces végétales sur les 57 étudiées

### V.6.1. Cas des polyphénols

Dans un premier temps la teneur en polyphénols (exprimée en mg d'acide gallique) a été déterminée dans les différentes matrices étudiées en se servant de la courbe d'étalonnage de la figure V.11 laquelle montre une très bonne corrélation ( $R^2 > 0.99$ ) entre la densité optique et la concentration de l'étalon. A partir des données du tableau V.18 et de l'histogramme de la figure V.12 il est aisé plus généralement de relever la prédominance de la pulpe de grenades dans la série décroissante suivante en tenant compte des valeurs les plus expressives : pelure de grenades > feuilles du myrte > feuilles de lavande > pelure de l'arboise > pépins des raisins rouges > noyau des dattes Degla-Beida > pulpe de mures sauvages = cosses de fèves. A l'exception de la paire mures sauvages/cosses de fèves, il y a en outre une différence statistiquement significative ( $p < 0.05$ ) entre les teneurs en polyphénols totaux de ces espèces végétales. D'après ces résultats :

- les deux plantes analysées sont plus riches en polyphénols comparées à Artemisia (herba halba) : 35.8 mg GAE/g (**Djeridane et al., 2007**) ;
- les cosses de fèves dépassent largement ceux des betteraves : 323 mg catechol /100g (m.f) (**Kaur et Kapoor, 2002**) ;
- les résultats pour quelques uns des fruits (dattes) sont similaires à ceux des dattes sèches (variété Kallas) : 339 mg FAE/100g (mf) (**Al-Farsi et al., 2005**)

La figure V.13 rend compte de la contribution des polyphénols au pouvoir réducteur. Les résultats trouvés ( $R^2 = 0.63$ ) sont en concordance avec ceux donnés par certains auteurs ayant utilisé d'autres méthodes de quantification du pouvoir antioxydant ainsi que d'autres matériels d'analyse : quelques plantes médicinales d'Algérie ( $R^2 = 0.63$  et  $0.72$  pour les acides hydroxybenzoïque et hydroxycénamique respectivement) (**Djeridane et al., 2007**).

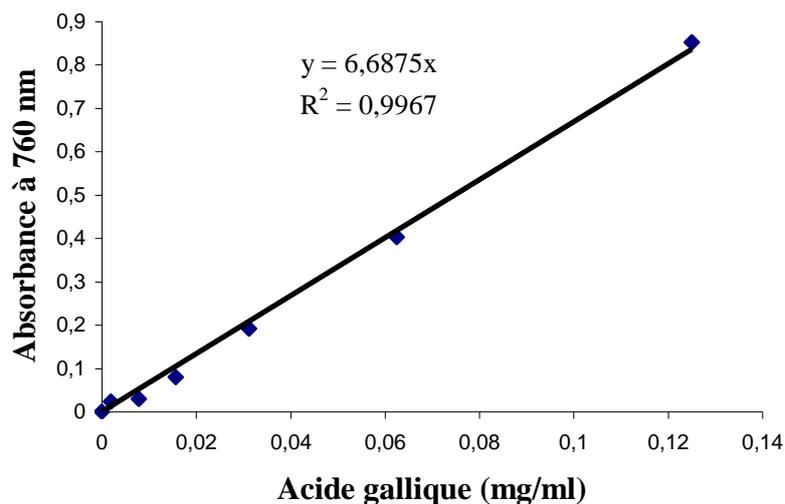


Figure V.11. Courbe d'étalonnage des polyphénols.

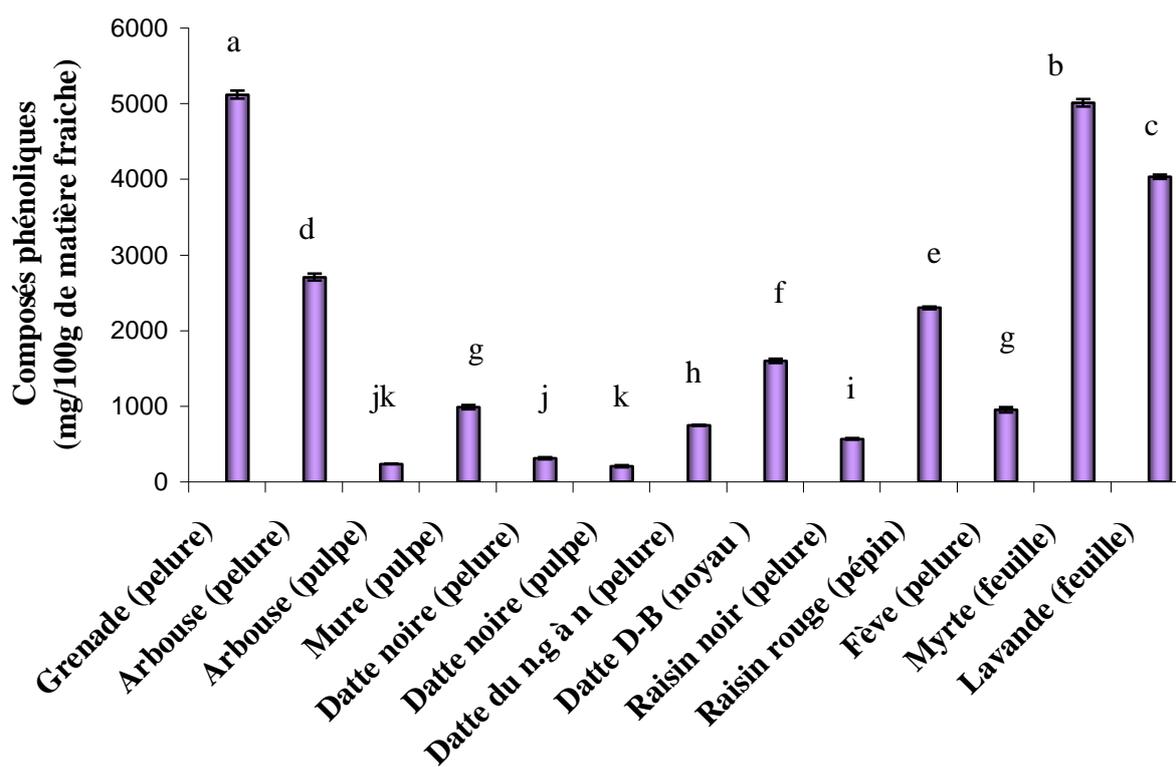
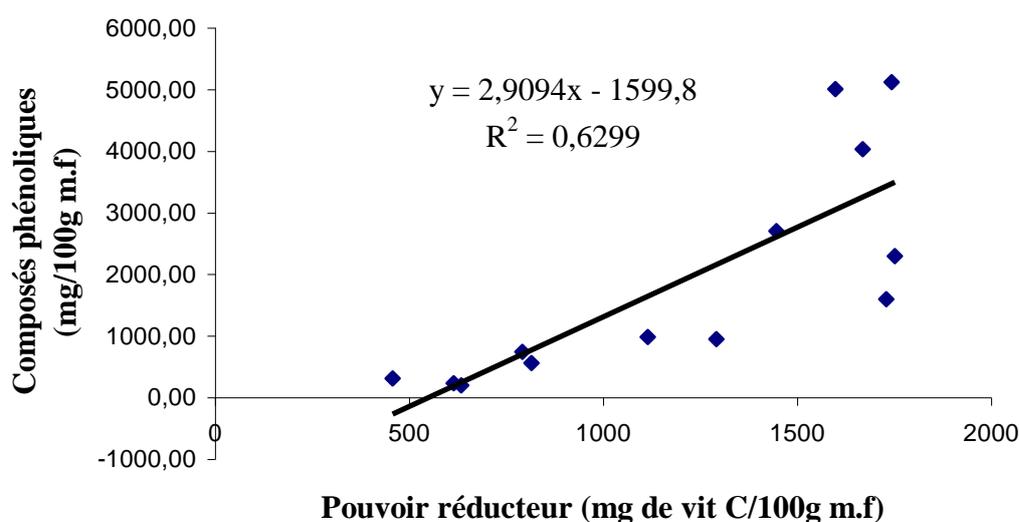


Figure V.12. Teneur en polyphénols des végétaux

**Tableau V.18.** Teneur en polyphénols des végétaux en mg/100g de matière fraîche

Végétaux	1 <sup>er</sup> essai	2 <sup>ème</sup> essai	3 <sup>ème</sup> essai	Moyenne± ecartype
Grenade (pelure)	5091,59	5082,62	5176,82	5117,01±51,99 <sup>a</sup>
Arbouse (pelure)	2670,65	2679,63	2754,39	2701,56±45,98 <sup>d</sup>
Arbouse (pulpe)	230,28	236,26	236,26	234,27±3,45 <sup>jk</sup>
Mure (pulpe)	958,50	1013,83	991,40	987,91±27,83 <sup>g</sup>
Datte noire (pelure)	301,31	307,29	326,73	311,78±13,29 <sup>j</sup>
Datte noire (pulpe)	213,83	185,42	206,36	201,87±14,73 <sup>k</sup>
Datte du n. g à n (pelure)	755,14	745,42	740,19	746,92±7,59 <sup>h</sup>
Datte D-B (noyau)	1570,09	1591,03	1629,91	1597,01±30,35 <sup>t</sup>
Raisin noir (pelure)	563,74	574,95	554,77	564,49±10,11 <sup>i</sup>
Raisin rouge (pépin)	2306,18	2310,55	2277,82	2298,18±17,77 <sup>e</sup>
Fève (pelure)	919,63	945,05	989,91	951,53±35,59 <sup>g</sup>
Myrte (feuille)	4952,52	5015,33	5055,70	5007,85±51,99 <sup>b</sup>
Lavande (feuille)	4011,21	4014,95	4059,81	4028,66±27,04 <sup>c</sup>

**Figure V.13.** Corrélation entre les teneurs en polyphénols et le pouvoir réducteur des végétaux

### V.6.2. Cas de L'acide ascorbique

La courbe d'étalonnage de la figure V.14 montre une excellente corrélation ( $R^2 > 0.99$ ) entre la densité optique et la teneur en acide ascorbique. La teneur en ce dernier varie énormément d'un végétal à un autre. On relève, selon les valeurs les plus marquantes (Tableau V.19), la série suivante : Myrte (feuilles) > arbose (pelure) = grenade (pulpe) > arbose (pulpe) > raisins rouges (pépins) > dattes noirs arrondies (pulpe) = fèves (cosses) = datte Degla-Beida (noyau). Les valeurs trouvées pour l'arbose sont inférieures aux données de la littérature scientifique : plus de 300 mg /100g de matière sèche (**Alarcao-E-Silva et al., 2001**).

Comme le suggèrent les résultats de la figure V.16 et aussi paradoxal que cela puisse paraître, il n'y a pas de corrélation apparente ( $R^2 < 0.2$ ) entre la teneur en acide ascorbique et le pouvoir réducteur. Nous sommes tentés d'avancer quatre hypothèses qui sont peut être à même d'expliquer ce résultat : 1) l'inadéquation de la méthodologie suivie dans l'évaluation du pouvoir réducteur de l'acide ascorbique ; 2) caractère au contraire spécifique de cette méthode pour la quantification du pouvoir réducteur des polyphénols comme cela a été signalé au début de ce chapitre ; 3) le mode de quantification de cette substance qui ne prend pas suffisamment en compte la sensibilité de cette dernière aux divers agents de dégradation et surtout 4) la présence d'antagonismes entre les différents composants réducteurs d'une même espèce végétale.

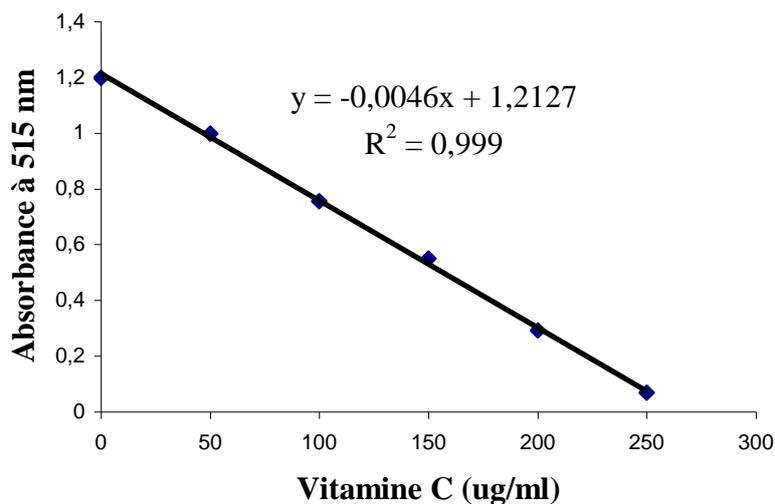


Figure V.14. Courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique

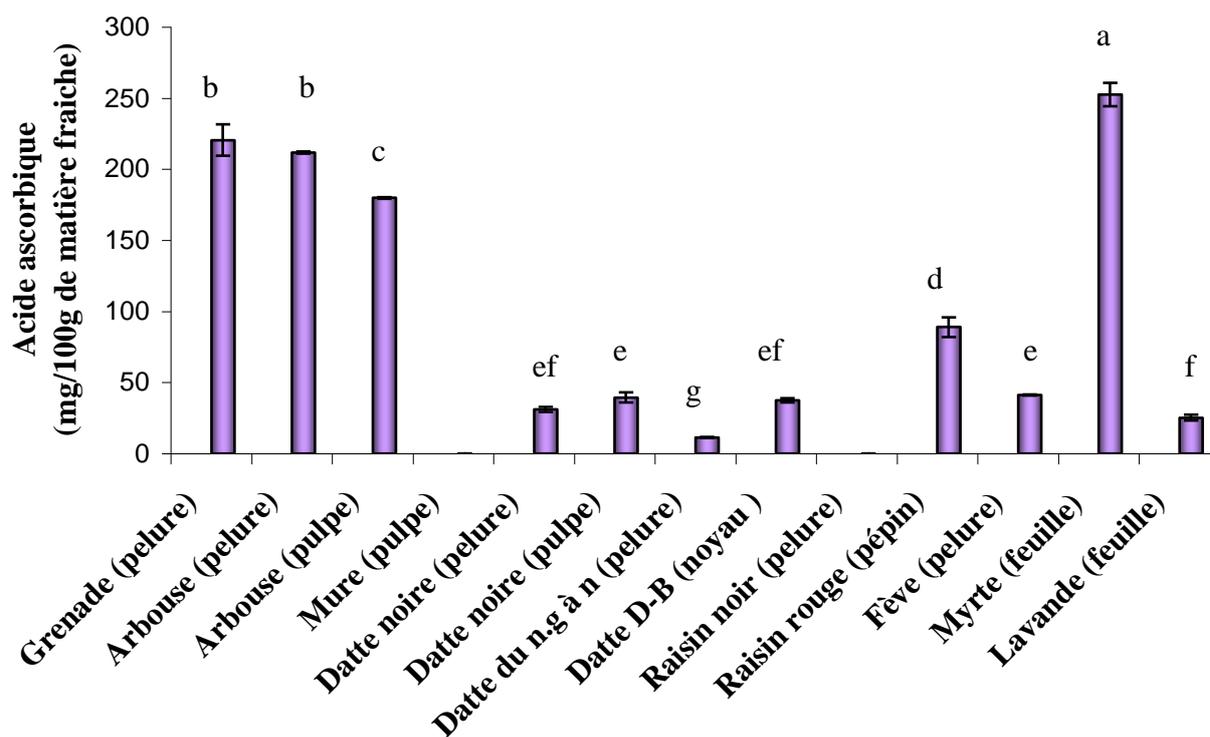
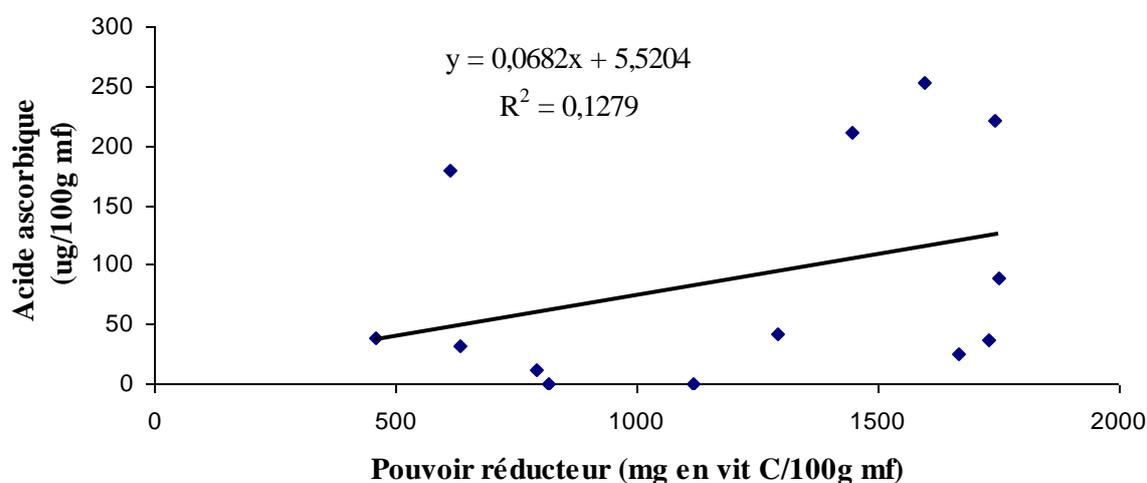


Figure V.15. Teneur en acide ascorbique des végétaux.

**Tableau V.19.** Teneur en acide ascorbiques des végétaux en mg/100g de matière fraîche

Végétaux	1 <sup>er</sup> essai	2 <sup>ème</sup> essai	3 <sup>ème</sup> essai	Moyenne± ecartype
Grenade (pelure)	207,85	226,11	227,41	220,46±10,94 <sup>b</sup>
Arbouse (pelure)	212,41	211,11	211,76	211,76±0,65 <sup>b</sup>
Arbouse (pulpe)	179,15	180,46	179,80	179,80±0,65 <sup>c</sup>
Mure (pulpe)	nd	nd	nd	nd
Datte noire (pelure)	31,11	29,15	33,07	31,11±1,96 <sup>ef</sup>
Datte noire (pulpe)	39,59	35,67	42,85	39,37±3,59 <sup>e</sup>
Datte du n.g à n (pelure)	10,89	11,54	10,89	11,11±0,38 <sup>g</sup>
Datte D-B (noyau)	38,28	38,28	35,67	37,41±1,51 <sup>ef</sup>
Raisin noir (pelure)	nd	nd	nd	nd
Raisin rouge (pépin)	89,15	81,98	95,67	88,93±6,85 <sup>d</sup>
Fève (pelure)	40,89	41,54	41,54	41,33±0,38 <sup>e</sup>
Myrte (feuille)	243,07	258,07	256,11	252,41±8,15 <sup>a</sup>
Lavande (feuille)	25,24	27,20	23,28	25,24±1,96 <sup>f</sup>

Nd : non déterminé

**Figure V.16.** Corrélation entre les teneurs en acides ascorbiques et le pouvoir réducteur des végétaux

### V.6.2.1 Pourcentage de contribution de l'acide ascorbique au pouvoir réducteur

Le Tableau V .20 montre le pourcentage de contribution de l'acide ascorbique au pouvoir réducteur.

On relève, selon les valeurs les plus importantes, la séries suivante : Arbose (pulpe) > Myrte (feuille)> Arbose (pelure)> Grenade (pelure). D'après ces résultats, la pulpe de arbose dépasse largement les autres, avec un pourcentage de contribution de 29,26 %.

**Tableau V .20.** Pourcentage de contribution de l'acide ascorbique au pouvoir réducteur

Végétaux	Pouvoir réducteur (en mg de vit c/100g m.f)	Acide ascorbique (mg/100g m.f)	Pourcentage de contribution de vitamine C (%)
Grenade (pelure)	1742,85	220,46	12,65
Arbose (pelure)	1445,71	211,76	14,65
Arbose (pulpe)	614,53	179,80	29,26
Mure (pulpe)	nd	nd	nd
Datte noire (pelure)	634,27	31,11	4,90
Datte noire (pulpe)	457,35	39,37	8,61
Datte du n.g à n (pelure)	790,94	11,11	1,40
Datte D-B (noyau)	1729,18	37,41	2,16
Raisin noir (pelure)	815,24	nd	nd
Raisin rouge (pépin)	1751,46	88,93	5,08
Fève (pelure)	1291,82	41,33	3,20
Myrte (feuille)	1597,57	252,41	15,80
Lavande (feuille)	1668,44	25,24	1,51

Nd : non déterminé

### V.6.3. Cas des caroténoïdes

La figure V.17 montre la courbe d'étalonnage des caroténoïdes qui donne une corrélation très satisfaisante ( $R^2 \sim 0.99$ ) entre la teneur en ces derniers et la densité optique.

Comme il est aisé de le constater à partir des résultats du tableau V.21 et surtout de l'histogramme de la figure V.18 quatre espèces végétales se distinguent du lot : la partie superficielle (pelure) colorée au rouge de l'arbose et de la datte grenat à noyau (sauvage provenant du nord maritime) et surtout les feuilles du myrte et de la lavande. De plus, pour ces quatre espèces les concentrations en caroténoïdes sont statistiquement différentes ( $p < 0.05$ ) : Myrte > lavande >> arbose > datte grenat à noyau (du nord). Par ailleurs, **Menvielle-Bourg (2005)** a souligné, sans toutefois avancer de valeur, la richesse du myrte en  $\beta$ -carotène.

Comme pour l'acide ascorbique, il n'y a pas de corrélation sinon minime ( $R^2 < 0.2$ ) (Figure V.19) entre la teneur en caroténoïdes et le pouvoir réducteur des parties des plantes étudiées. **George et al. (2004)** a abouti à la même conclusion s'agissant des caroténoïdes.

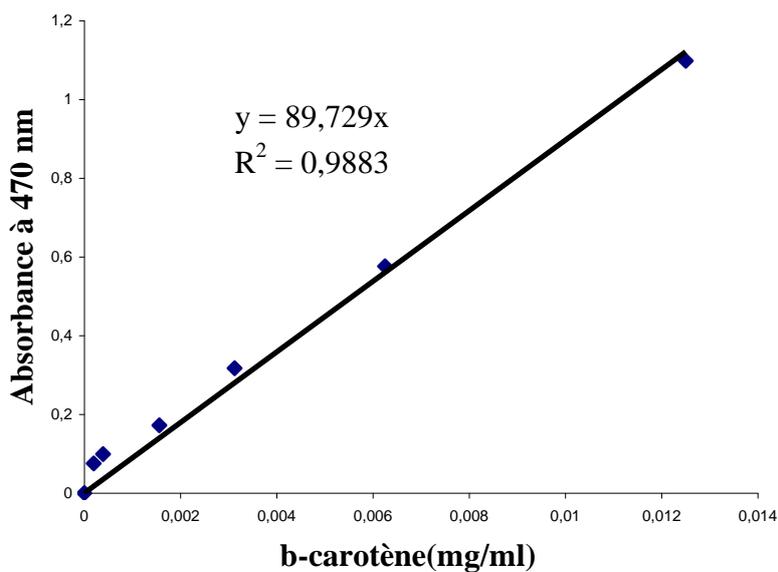


Figure V.17. Courbe d'étalonnage des caroténoïdes.

La teneur en caraténoïdes des produits analysés est illustrée par l'histogramme de la figure VI.16

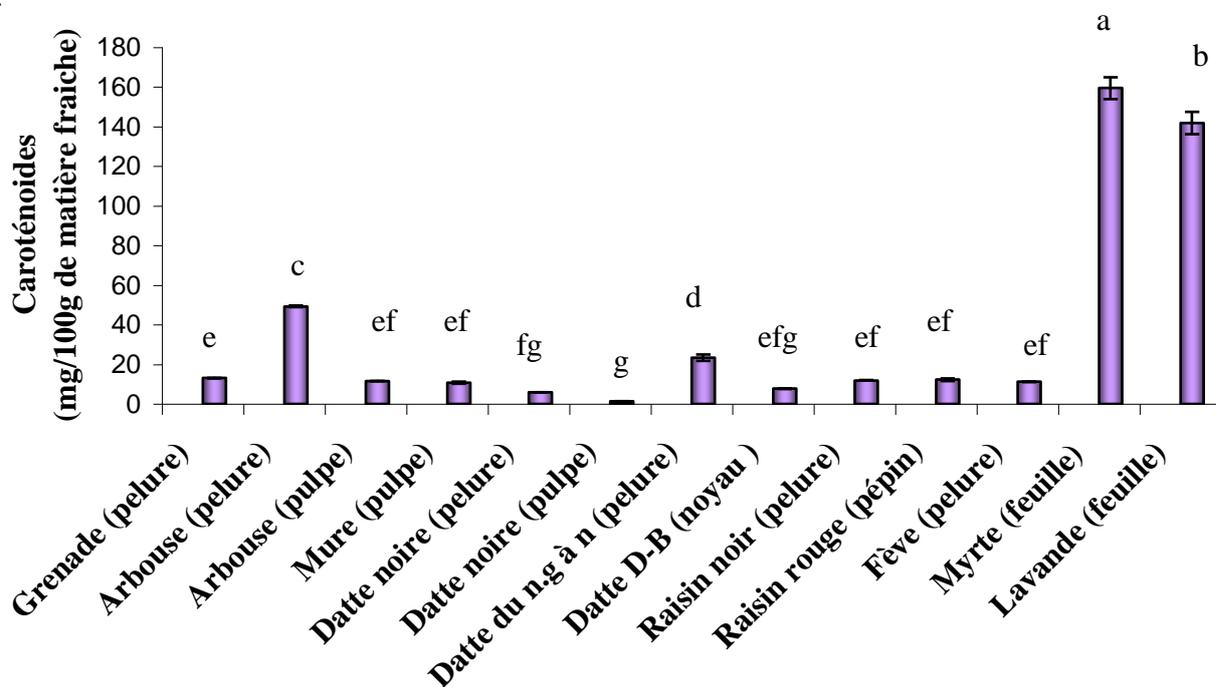
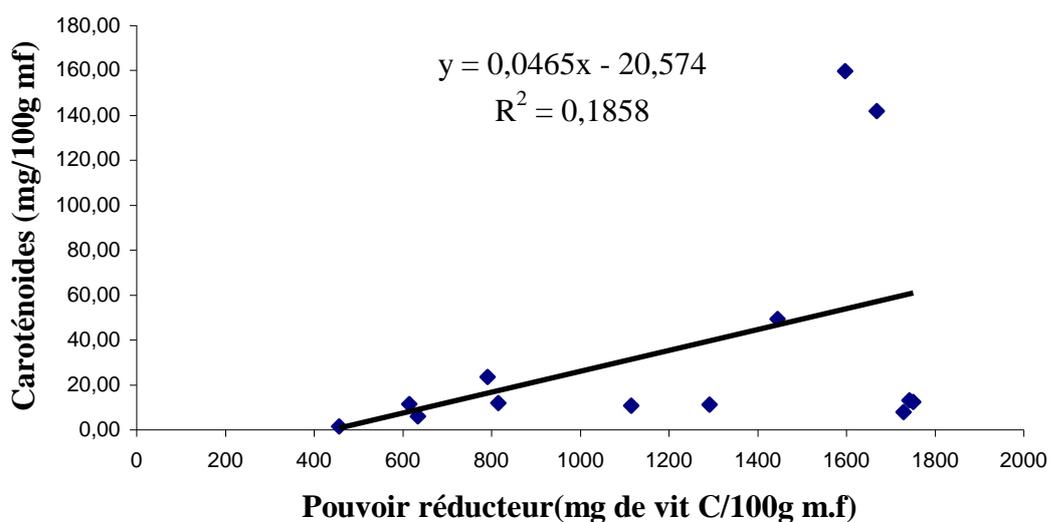


Figure V.18. Teneur en caroténoïdes totaux de quelques végétaux

**Tableau V.21.** Teneur en caroténoïdes des végétaux en mg/100g de matière fraîche

Végétaux	1 <sup>er</sup> essai	2 <sup>ème</sup> essai	3 <sup>ème</sup> essai	Moyenne ± ecartype
Grenade (pelure)	13,21	13,09	13,04	13,11 ± 0,09 <sup>e</sup>
Arbouse (pelure)	49,76	49,04	49,04	49,28 ± 0,42 <sup>c</sup>
Arbouse (pulpe)	11,48	11,48	11,48	11,48 ± 0,00 <sup>ef</sup>
Mure (pulpe)	11,26	10,09	10,64	10,66 ± 0,59 <sup>ef</sup>
Datte noire (pelure)	5,91	5,91	5,80	5,87 ± 0,06 <sup>fg</sup>
Datte noire (pulpe)	1,50	1,28	1,28	1,36 ± 0,13 <sup>g</sup>
Datte du n.g à n (pelure)	21,84	25,08	23,46	23,46 ± 1,62 <sup>d</sup>
Datte D-B (noyau)	7,63	7,91	7,75	7,76 ± 0,14 <sup>efg</sup>
Raisin noir (pelure)	11,87	11,98	11,92	11,92 ± 0,06 <sup>ef</sup>
Raisin rouge (pépin)	11,42	12,48	12,87	12,26 ± 0,75 <sup>ef</sup>
Fève (pelure)	11,20	11,09	11,20	11,16 ± 0,06 <sup>ef</sup>
Myrte (feuille)	160,48	164,50	153,63	159,54 ± 5,49 <sup>a</sup>
Lavande (feuille)	148,28	139,59	137,75	141,87 ± 5,63 <sup>b</sup>

**Figure V.19.** Corrélation entre les teneurs en caroténoïdes et le pouvoir réducteur des végétaux.

### V.7. Activité antibactérienne

Bien qu'étant assurés de la nature de la souche utilisée, nous avons tout de même positivement vérifié le test de coloration de Gram ainsi que sa morphologie. Un isolement en milieu sélectif (Chapman et Baird- Parker) a aussi donné des résultats satisfaisants. Le nombre ou la suspension bactérienne utilisées dans l'activité antibactérienne est de  $5.6 \cdot 10^6$  UFC/ml.

Douze extraits aqueux de végétaux et quatre combinaisons issus de ces extraits ont été testés pour l'activité antibactérienne vis-à-vis de la souche *Staphylococcus aureus* : les feuilles de myrte (test +), la pelure de grenades (test +) et les feuilles de la lavande (test – mais riche en polyphénols). Le tableau V.22 et l'histogramme de la figure V.20 récapitulent les résultats obtenus. Les figures V.21 présentent les photographies des zones d'inhibition même des combinaisons avec des tests négatifs.

Il en résulte que le test d'activité antibactérienne révèle, d'une part la sensibilité de *Staphylococcus aureus* vis-à-vis de l'extrait aqueux de pelure de grenade, et d'une autre part une sensibilité intermédiaire vis-à-vis de l'extrait aqueux de feuille de myrte (figure V.21). Ces résultats sont en accord avec ceux de **Al-Zoreky (2009)** qui a rapporté une activité antibactérienne des extraits méthanoliques de pelure de grenade sur la souche *Staphylococcus aureus*.

De même, les études biologiques de quelques plantes médicinales appartenant à la flore tunisienne montrent que l'huile essentielle ainsi que le décocté de feuilles de myrte présentent une activité antibactérienne significative vis-à-vis de *Staphylococcus aureus* (**Anonyme, 2007**).

De plus, **Shahidi Bonjar (2004)** a démontré l'existence d'une activité antibactérienne des extraits méthanolique de feuille et des grains de myrte vis-à-vis de *Staphylococcus aureus*.

L'importante activité des extraits aqueux de grenade et de myrte peut être due à sa richesse en composés phénoliques. En effet la teneur en polyphénols de la pelure de grenades dépasse les autres extraits étudiés (~5117mg/100 m.f). Viennent ensuite les feuille de myrte (~5008 mg/100g m.f). Ces observations sont en complet accord avec les résultats trouvés par **Shan et al. (2007)** concernant la corrélation entre les composés phénoliques totaux et les activités antibactériennes d'extraits de plantes diverses, y comprises les pelures grenade.

**Al-Zoreky (2009)** a trouvé que les tanins donne une zone d'inhibition semblable (15-21 mm) comparés à ceux de extrait méthanolique de pelure de grenade. En fait, les tanins constituent 25 % du poids de la pelure des fruits de grenade (**Voravuthikunchai et al., 2005**).

La plupart des travaux soutiennent que le principal site d'action des substances phénoliques est la membrane plasmique bactérienne (**Shunying et al., 2005**) qu'ils sont en mesure de désintégrer (**Ultee et al., 1999**). Cette membrane se déstructure devenant plus perméable aux ions (**Lambert et al., 2001**). La lésion de la membrane cellulaire peut également la diminution du potentiel membranaire (**Ultee et al., 1999**).

Nos résultats montrent aussi l'absence d'activité antibactérienne des autres extraits aqueux étudiés individuellement (Arbouse, mure, datte noire, fève, poivron rouge, pépin de raisin, noyau de datte, raisin noir, datte grenat à noyau et la lavande) vis-à-vis de *Staphylococcus* (figure V.21). Ce résultat est partiellement confirmé par **Kaloustian et al. (2008)** qui ont observé une absence d'activité antibactérienne des huiles essentielles de lavande vis-à-vis de la souche *Staphylococcus aureus*.

Relevons aussi l'absence d'un quelconque effet synergique relatif à l'activité antibactérienne des mélanges analysés (figure V.21). En tout état de cause nous estimons que cette différence dans les résultats serait attribuée d'une part à la différence dans les types de polyphénols, leurs concentrations ainsi que la nature déterminent les résultats obtenus.

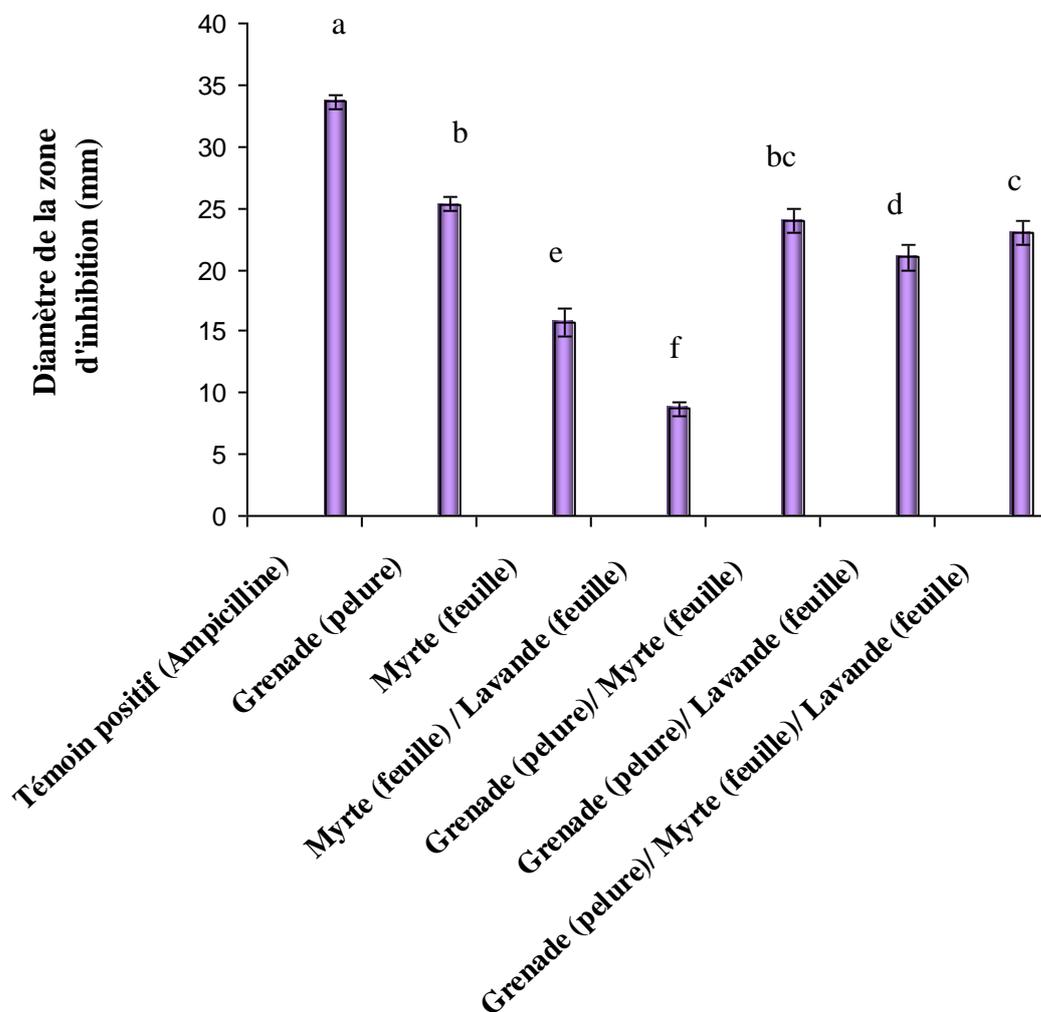
Naturellement, il est utile de souligner la validité du test aussi bien négatif (eau distillée) que positif (Ampicilline). Celui-ci montre un effet inhibiteur plus élevé comparé aux extraits étudiés (figure V.22).

**Tableau V.22.** Diamètres des zones d'inhibition des extraits aqueux étudiés avec la souche *Staphylococcus aureus*

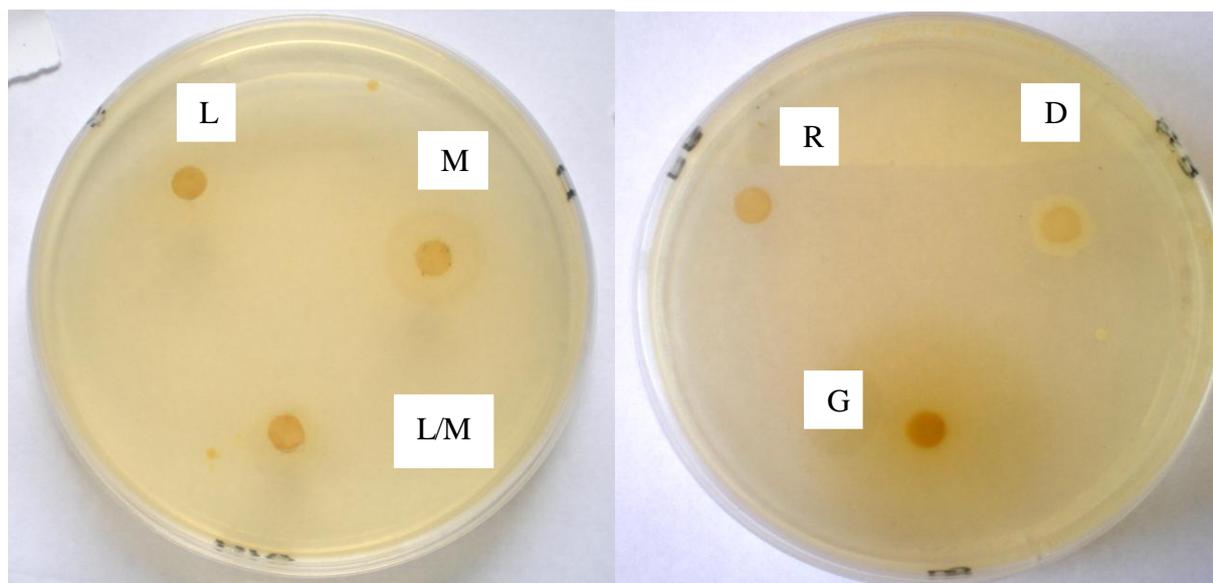
Extrait aqueux de	Diamètre de la zone d'inhibition <sup>(1)</sup> (mm)
Grenade (pelure)	25,33±0,58 <sup>b</sup>
Arbouse (pelure)	6±00 <sup>g</sup>
Mure (pulpe)	6±00 <sup>g</sup>
Datte noire (pelure)	6±00 <sup>g</sup>
Datte du n.g à n (pelure)	6±00 <sup>g</sup>
Datte D-B (noyau)	6±00 <sup>g</sup>
Raisin noir (pelure)	6±00 <sup>g</sup>
Raisin rouge (pépin)	6±00 <sup>g</sup>
Poivron rouge (pelure)	6±00 <sup>g</sup>
Fève (pelure)	6±00 <sup>g</sup>
Myrte (feuille)	15,67±1,15 <sup>e</sup>
Lavande (feuille)	6±00 <sup>g</sup>
Myrte (feuille) / Lavande (feuille)	8,67±0,58 <sup>f</sup>
Grenade (pelure)/ Myrte (feuille)	24,00±1,00 <sup>bc</sup>
Grenade (pelure)/ Lavande (feuille)	21,00±1,00 <sup>d</sup>
Grenade (pelure)/ Myrte (feuille)/ Lavande (feuille)	23,00±1,00 <sup>c</sup>
Témoin positif (Ampicilline) <sup>(2)</sup>	33,67±0,58 <sup>a</sup>
Témoin négatif (eau distillée)	6±00 <sup>g</sup>

<sup>(1)</sup>Diamètre de disque utilisé = 6 mm.

<sup>(2)</sup>Ampicilline (0.02g/ml).

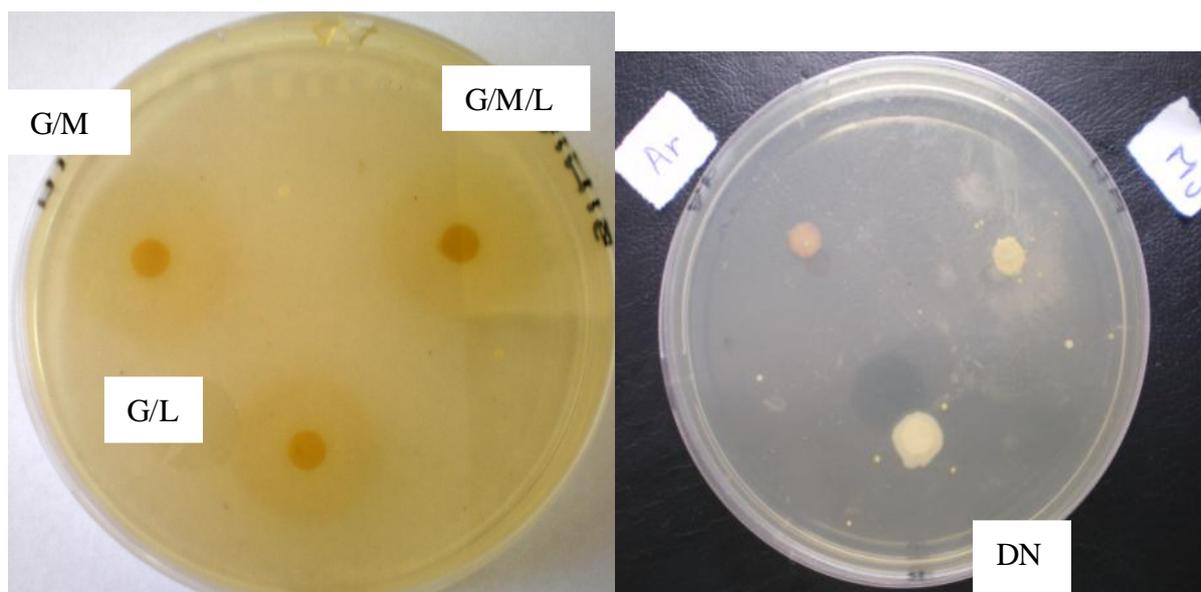


**Figure V .20.** Diamètres des zones d'inhibition des extraits végétaux individuels, de leurs mélanges et du témoin positif obtenus ; souche étudiée : *Staphylococcus aureus*.



L : Lavande (feuille)  
 M : Myrte (feuille)  
 L/M : Myrte (feuille) / Lavande (feuille)

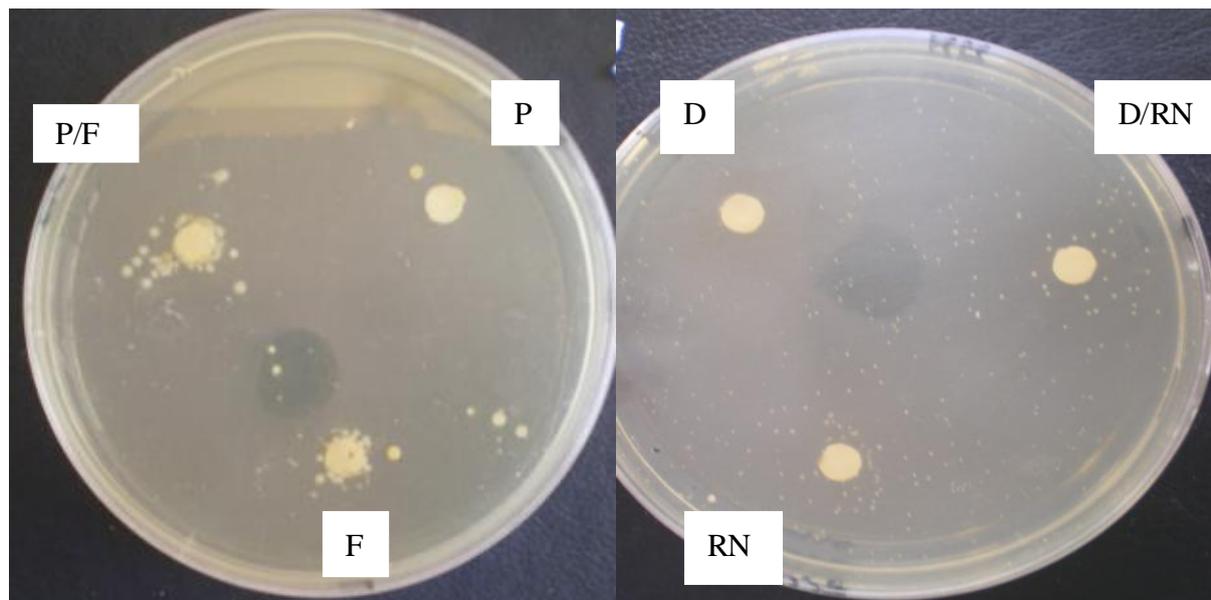
R : Raisin rouge (pépin)  
 D : Datte D-B (noyau)  
 G : Grenade (pelure)



M/G : Grenade (pelure)/ Lavande (feuille)  
 G/L : Grenade (pelure)/ Lavande (feuille)

G/M/L : Grenade (pelure)/ Myrte (feuille)/ Lavande (feuille)

Ar : Arboise (pelure)  
 Mu : Mure (pulpe)  
 DN : Datte noire (pelure)



P/F : Poivron rouge (pelure)/Fève (pelure)

P : Poivron rouge (pelure)

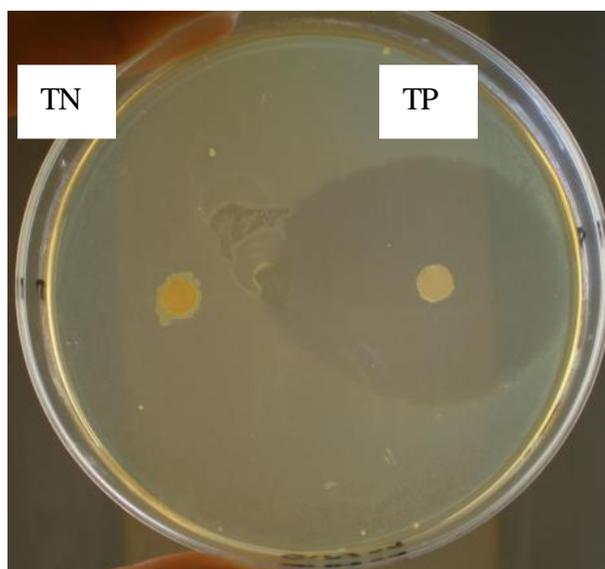
F : Fève (pelure)

D : Datte noire (pelure)

RN : Datte du n. g à n (pelure)

D/RN : Datte noire (pelure)/ Datte du n. g à n

**Figure V.21.** Photographies des zones d'inhibition des extraits aqueux étudiés sur *Staphylococcus aureus*.



TN : Témoin négatif (eau distillée)

TP : Témoin positif (Ampicilline)

**Figure V.22.** Photographie des zones d'inhibition de l'eau distillée et de l'Ampicilline sur *Staphylococcus aureus*

### V.8. Concentration minimale inhibitrice (CMI)

Nous constatons que l'extrait aqueux de la pelure de grenade est plus efficace avec une CMI = 2000 µg/ml (2%) que celui des feuilles de myrte avec une CMI = 10 000 µg/ml (10%) (Tableaux V. 23 et V. 24 et Figures V.23 et V.24).

Les résultats trouvés (CMI = 2000 µg/ml) sont en concordance avec ceux donnés par auteur **Al-Zoreky (2009)** qui a déterminé l'activité antimicrobienne de l'extrait méthanolique de pelure de grenade vis-à-vis de la souche *Staphylococcus aureus*.

**Tableau V.23.** Concentration minimale inhibitrice de la pelure de grenade

Concentration de l'extrait de Grenade <sup>(1)</sup>	50%	25%	10%	5%	3%	2%	1%
Observation après incubation	-	-	-	-	-	-	+

<sup>(1)</sup> Concentration donnée par rapport à l'extrait initial

(-) : inhibition

(+) : développement

**Tableau V.24.** Concentration minimale inhibitrice des feuilles de myrte

Concentration de l'extrait myrte <sup>(1)</sup>	75%	70%	50%	25%	10%	5%
Observation après incubation	-	-	-	-	-	+

<sup>(1)</sup> Concentration donnée par rapport à l'extrait initial

(-) : inhibition

(+) : développement



**Figure V.23.** Photographie des différentes concentrations (dilutions) permettant de déduire le CMI. Cas des extraits de la pelure du fruit de grenade



**Figure V.24.** Photographie des différentes concentrations (dilutions) permettant de déduire le CMI. Cas des extraits des feuilles de myrte.

# Conclusion

Cette étude, pouvant être perçue comme une ébauche à une étude à venir plus approfondie, démontre le potentiel antioxydant des extraits aqueux obtenus à partir de 28 fruits ( dont 21 sont communs et 6 sauvage), 23 légumes (dont 1 est sauvage : le chardon) et 6 plantes médicinales d'Algérie. Par conséquent on peut dire globalement que les plantes (fruits, légumes et plantes médicinales) sont une source précieuse de substances antioxydantes. D'après les résultats obtenus, l'arbouse, les mures sauvages, les dattes noires, les fèves et les plantes médicinales appartiennent à la première catégorie de la classification adoptée. « +++ » ce qui correspond à une activité antioxydante dépassant 1000 mg de vitamine C/100 de masse totale. Toutes les autres espèces se rangent dans les catégories « ++ » (12 espèces), « + » (34 espèces) et «-» (1 espèce : olive de table verte désamérisée avec la soude).

Les extraits résultant d'une association à parts égales (en volume) d'extraits de quelques espèces végétales étudiées démontre le plus souvent un effet synergique très intéressant (dépassant parfois la valeur de 2). Le résultat le plus exceptionnel concerne l'extrait des cosses de fèves. En effet, les différentes combinaisons entre extraits aqueux de trois pulpes (carottes, betterave et poivron rouge) implique un effet antagoniste ( $ES < 1$ ). Mais en intégrant l'extrait des cosses de fèves à ces combinaison, les résultats dépassent toutes les prévisions puisque l'ES dépasse dans tous les cas l'unité, atteignant même la valeur de 2 dans deux mélanges tertiaires : fève/betterave/carotte et fève/carotte/poivron.

Il convient de noter en outre que mis à part les cas des plantes médicinales, les substances antioxydantes semblent se répartir inégalement dans les différentes parties des plantes étudiées ce qui a été vérifié grâce à l'indice d'hétérogénéité ( $\geq 5$  dans beaucoup de cas) que nous avons conçu dans le cadre de la présente étude. Notons que les noyaux, les pépins et les grains présentent dans tous les cas où ils sont analysés, un pouvoir antioxydant le plus élevé. C'est dans ce cas là où on a relevé un IH le plus élevé (21 : cas des raisins muska).

Ce qui laisse entrevoir une possibilité de valorisation à des fins alimentaires et/ou non alimentaires. Pour ce qui est de la partie prise généralement comme étant comestible (pulpe/pelure), c'est-à-dire lorsque les noyaux (pépins et graines) ne sont pas pris en compte, c'est la pelure qui montre toujours un pouvoir antioxydant le plus élevé induisant alors un IH atteignant la valeur 8 dans le cas des figes noires. Ceci devait inciter les gens à consommer la pelure dans la mesure du possible évidemment.

Concernant le pouvoir antibactérien, parmi les quelques extraits analysés (12 au total) la peau des grenades et les feuilles de myrte ont donné des résultats satisfaisants. Pour la concentration minimale inhibitrice l'extrait aqueux de la pelure de grenade est plus efficace avec une CMI = 2000 µg/ml que celui des feuilles de myrte avec une CMI = 10 000 µg/ml.

Il importe aussi de noter l'existence d'une corrélation positive ( $R^2 = 0.6$ ) entre le pouvoir réducteur et la teneur en polyphénols de 13 espèces végétales sur les 57 analysées au total.

Comme nous l'avons souligné dans le corps de ce mémoire, les plantes sauvages, sous toutes leurs formes, peuvent constituer un appoint non négligeable dans l'amélioration de la ration alimentaire des populations.

Notons enfin que la partie de cette étude concernant les fruits a été soumise sous forme d'article scientifique à la revue « Phytothérapie » qui est publié dans le volume 8 numéros 5 juin 2010.

# Références bibliographiques

- Ahn, J., Grun, I U., Mustapha, A.** (2007). Effects of plant extracts on microbial growth, color change, and lipid oxidation in cooked beef. *Food Microbiol* ,24, 7–14.
- Alarcao-E-Silva, M L CMM., Leitao, A.E.B., Azinheira, H.G., Leitao, M. C. A.** (2001) The Arbutus Berry: Studies on its Color and Chemical Characteristics at Two Mature Stages. *J. Food Compos. Anal* ,14, 27-35.
- Al-Farsi, M., Alasalvar, C., Morris, A., Baron, M., Shahidi, F.** (2005). Compositional and Sensory Characteristics of Three Native Sun-Dried Dte (Phoenix dactylifera L.) Varieties Grown in Oman. *J Agr Food Chemistry* ,53, 7586-7591.
- Ali-Shtayeh, MS., Yaghmour, RM-R., Faidi, YR., Salem, K., Al-Nuri, MA.** (1998). Antimicrobial activity of 20 plants used in folkloric medicine in the Palestinian area. *Journal of Ethnopharmacology* , 60,265–271.
- Almeida-Doria, R.F., Regitano-Darce, AB.** (2000). Antioxydant level of rosemary and oregano ethanol extracts in soybean oil under thermal oxidation. *Ciencia e Tecnologia de Alimentos* 20 (2), Campinas May/August, <http://www.scielo.br>
- Al-Zoreky, N.S.**(2009) .Antimicrobial activity of pomegranate (Punica granatum L.) fruit peels.*International Journal of Food Microbiology* ,134, 244–248.
- Al-Zubairi, AS., Abdul, AB., Abdelwahab, SI., Peng, CY., Mohan, S., et Manal Mohamed Elhassan, MM.** (2009). Eleucine indica Possède des Propriétés antioxydantes, Antibactériennes et Cytotoxiques. *ecam* doi:10.1093/ecam/nep091.
- Ambé, G.A.** (2001). Les fruits sauvages comestibles des savanes guinéennes de Côte-d'Ivoire : état de la connaissance par une population locale, les Malinké. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ* , 5 (1), 43-58.
- Amiot-Carlin, M.J., Caillavet, F., Causse, M., Combris, P., Dallongeville, J., Padilla, M., Renard, C., Soler, L.G.** (2007). Les fruits et légumes dans l'alimentation. Enjeux et déterminants de la consommation. *Expertise scientifique collective, synthèse du rapport, INRA (France)*, 80 p.
- Anonyme.** (2007). Compte rendu :VIIIe Symposium international d'aromathérapie et plantes médicinales, Grasse 2006 (II) . *Phytothérapie*, numéro 1, 41–47.
- Anonyme.** (2005 ). Méthodes de laboratoire utilisées pour les essais d'antibiorésistance. *Manuel terrestre de l'OIE*,
- Antolovich, M., Prenzler, P.D., Patsalides, E., Mc Donald, S., & Robards, K.**(2002). Methods for testing antioxidant activity. *Analyst*, 127,183-198.

- Atmani, D., Chaher, N., Berboucha, M., Ayouni, K., Lounis, H., Boudaoud, H., Debbache, N., Atmani, D.**(2009). Antioxidant capacity and phenol content of selected Algerian medicinal plants . *Food Chemistry*,112,303–309.
- Baba Aissa, F.** (1999). Encyclopédie des plantes utiles, flore d'Algérie et du Maghreb. *Librairie moderne-Rouiba*, pp 194-231.
- Baudin, B.** (2006). Stress oxydant et pathologies cardiovasculaires. *mt cardio*, volume 2, numéro 1, 43-52.
- Beghalia, M., Ghalem, S., Allali, H., Belouatek, A., et Marouf, A.** (2008). Inhibition of calcium oxalate monohydrate crystal growth using Algerian medicinal plants. *Journal of Medicinal Plants Research* , 2(3), 066-070.
- Belhaj, H-B., et Ben Ayed-Mouelhi, R.** (2007). Productivity and product quality: evidence from agricultural products in South Mediteranean countries, In *Medit*, IAM Bari, numéro 1/, p 12-21.
- Belhattab, R., Larous, L., Kalantzakis, Y.** (2004). Antifungal properties of origanum glandulosum Desf. *Extracts J of Food, Agriculture and Environment* 2: 69-73.
- Benchelah, A-C., Maka, M.** (2008). Les dates: intérêt en nutrition. *Phytothérapie* ,6, 117-121.
- Biesiada, A., Sokól-Łetowska, A., Kucharska, A.** (2008). The effect of nitrogen fertilization on yielding and antioxidant activity of lavender (*Lavandula angustifolia* Mill.). *Acta Sci. Pol., Hortorum Cultus* 7(2) : 33-40
- Biglari, F., AlKarkhi, AFM., Easa, AM.** (2008). Antioxidant activity and phenolic content of various date palm (*Phoenix dactylifera*) fruits from Iran. *Food Chemistry*, 107,1636–1641.
- Blázovics, A., Lugasi, A., Szentmihályi, K., Kéry, Á.** (2003). Reducing power of the natural polyphenols of *Sempervivum tectorum* in vitro and in vivo. *Acta Biol. Szeged* ,47 ,(1-4), 99-102.
- Bolling, BW., Chen, E., Parkin, KL.** (2007). Quinone reductase inducing and antioxidant activities of aqueous isolates of green bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Food Research International*, 40, 182–190.
- Bouaoun, D., Hilan, C., Garabeth, F., Sfeir, R.** (2007). Etude de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle d'une plante sauvage *Prangos asperula* Boiss. *Phytothérapie* , 5, 129–134.
- Bruneton, J.** (1999). Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. *3e édition. Tec & Doc. Lavoisier, Paris.*

- Buricova, L., et Réblova Z.** (2007). Czech Medicinal Plants as Possible Sources of Antioxidants. *Czech J. Food Sci*, 26 ( 2), 132–138.
- Calabrese, G.** (2003). Valeur nutritionnelle des raisins de table. *Bultion de l'office internationale du vin*, pp 862-864.
- Cao, G., Booth, S.L., Sadowski, J.A., Prior, R.L.** (1998). Increases in human plasma antioxidant capacity after consumption of controlled diets high in fruit and vegetables. *Am J Clin Nutr*, 68, 1081–7.
- Capecka, E., Mareczek, A., Leja, M.** (2005): Antioxidant activity of fresh and dry herbs of some *Lamiaceae* species. *Food Chemistry*, 93, 223–226.
- Causse, C.,** (2005). Les secrets de santé des antioxydants. *Edition Alpen s.a.m*, pp :95.
- Cetkovic, G., Djilas, S., Canadanovic-Brunet, J., Tumbas, V.** (2004). Antioxidant properties of marigold extracts. *Food Res. Int*, 37, 643–650.
- Ceylan, E., Fung, D. Y. C., Sabah, J. R.** (2004). Antimicrobial activity and synergistic effect of cinnamon with sodium benzoate or potassium sorbate in controlling *Escherichia coli* O157:H7 in apple juice. *Journal of Food Science*, 69, FMS102–FMS106.
- Chauvet, M.** L'histoire des légumes cultivés en France. Dossier de l'environnement de l'INRA, numéro 21.
- Chen, H.Y., Yen, G.C.** (2007). Antioxidant activity and free radical-scavenging capacity of extracts from guava (*Psidium guajava* L.) leaves. *Food Chemistry*, 101, 686–694.
- **Chiej, R.** (1984). Macdonald encyclopedia of medicinal plants. *Ed Macdonald, London*, pp 212-7.
- Chira, K., Suh, J-H., Saucier, C., Teissédre, P-L.** (2008). Les polyphénols du raisin. *Phytothérapie*, 6, 75–82.
- Cillard, J., et Cillard, P.** (2006). Mécanismes de la peroxydation lipidique et des anti-oxydations. *OCL*, volume 13, numéro 1, 24-29.
- Codex Stan 186-1993, AMD. 1-2005.** Norme Codex pour les figues de Barbarie.
- Dapkevicius, A., Venskutonis, R., Van Beek, T., Linssen, J.**(1998) . Antioxidant activity of extracts obtained by different isolation procedures from some aromatic herbs grown in Lithuania. *J. Sci. Food Agric*, 77, 140–146.
- Dauchet, L., Amouyel, Ph., Dallongeville, J.** (2005). Consommation de fruits et légumes et risque d'accident vasculaire cérébral et cardiaque : Méta-analyse des études épidémiologiques prospectives. *Cah. Nutr, Diét*, 40, (1), 31-40.

- Derbel, S., Ghedira, K.** (2005). Les phytonutriments et leur impact sur la santé. *Phytothérapie*, Numéro 1, 28-34.
- Dillard, C.J., German, J.B.** (2000). Phytochemicals: nutraceuticals and human health. *J. Sci. Food Agric*,80, 1744–1756.
- Djeridane, A., Yousfi, M., Nadjemi, B., Boutassouna, D., Stocker, P., Vidal, N.** (2006). Antioxidant activity of some algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food Chemistry* 97, 654–660.
- Djeridane, A., Yousfi, M., Nadjemi, B., Vidal, N., Lesgards, J.F., Stocker, P.**(2007). Screening of some Algerian medicinal plants for the phenolic compounds and their antioxidant activity. *Eur Food Technology*, 224,801-809.
- Document EGEA.** (2005). International Conference on Health Benefits of Mediterranean Diet: From scientific evidence to health prevention actions. ( *third edition*), 96 p.
- Document, IFU (Internationale Fruchtsaft Union).** (2005). Fruit juice nutrition policy (IFU position paper), 7p.
- Document, INRA/FAO.** (2006). Deuxième rapport national sur l'état des ressources. *phytogénétiques*, 92p.
- Dorman, H.J., Bachmayer, O., Kosar, M., Hiltunen, R.**(2004): Antioxidant properties of aqueous extracts from selected *Lamiaceae* species grown in Turkey. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52, 762–770.
- Duh, P. D., Yen, W. J., Du, P. C., Yen, G. C.** (1997). Antioxidant activity of mung bean hulls. *Journal of American Oil Chemists Society*, 74(9), 1059–1063.
- Ekstrom, AM., Serafini, M., Nyrén, O., Hansson, L.E., Ye, W., Wolk, A.** (2000). Dietary antioxidant intake and the risk of cardia cancer and non-cardia cancer of the intestinal and diffuse types: a population-based case-control study in Sweden. *Int J Cancer*,87, 133–140.
- Ercisli, S., Orhan, E.** (2008). Some physico-chemical characteristics of black mulberry (*Morus nigra* L.) genotypes from Northeast Anatolia region of Turkey. *Scientia Horticulturae* 116, 41–46.
- European patent 1902631:** Plant-based natural antioxidant additive intended for animal nutrition.
- Fahn, S., Cohen, G.** (1992). The oxidant stress hypothesis in Parkinson's disease : evidence supporting it. *Ann Neurol*, 32, 804-812.
- Favier, A.** (1997). Le stress oxydant : intérêt de sa mise en évidence en biologie médicale et problèmes posés par le choix d'un marqueur. *Annale de biologie clinique*, volume 55, numéro 1, 9-16.

- Federighi, M., et Tholozan, J.L.** (2001). Traitements ionisants en 200 agroalimentaire. In : *Traitements ionisants et Hautes pressions Des Aliments*. Ed, 201 Economica, Paris (France), pp, 21-149.
- Ganry, G.** (2006). The nutritional value of fruits and vegetables. *Fruits*, 61, 223-224.
- Gao, L., Mazza, G.** (1995). Characterization, quantitation, and distribution of anthocyanins and colourless phenolics in sweet cherries. *J. Agr. Food Chemistry* 43: 343–346.
- George, B., Kaur, C., Khurdiya, D.S., Kapoor, H.C.** (2004). Antioxidants in tomato (*Lycopersium esculentum*) as a function of genotype. *Food Chemistry* ,84, 45–51.
- Ghedira, K.** (2005). Les flavonoïdes : structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. *Phytothérapie*, Numéro 4,162-169.
- Guo, C., Yang, J., Wei, J., Li, Y., Xu, J., Jiang, Y.** (2003). Antioxydant activities of peel, pulp, and seed fractions of common fruits as determined by FRAP assay. *Nutr. Res* ,23, 1719-1726.
- Haslam, E., Lilley, T.H., YaCai, Martin, R., Magnolato, D.**(1989). Traditional herba medicines the role of polyphenols, *Planta Medica*. 55, 1–8.
- Havsteen, B.H.** (2002). The biochemistry and medical significance of the flavonoids. *Pharmacol Therap*, 96, 67-202.
- Hennebelle, T., Sahpaz, S., Bailleul, F.** (2004). Polyphénols végétaux, sources, utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. *Phytothérapie*, Numéro 1, 3-6.
- Hervieu, B.** (2007). *Mediterra : identité et qualité des produits alimentaires méditerranéens*. Paris : Ciheam/Sciences Po, 374 p - ISBN 978-2-7246-1027-7.
- Hinneberg, I., Damien Dorman, H.J., Hiltunen, R.** (2006). Antioxydant activities of extracts from selected culinary herbs and spices. *Food Chemistry*, 97, 122-129.
- Ietswaart, J.H** (1980). A taxonomic revision of the genus *Origanum* (Labiatae) In chemical composition and antioxidant activity of essential oils from Algerian *Origanum glandulosum* Desf. Leiden Botanical series 4. Leiden University Press, la Haye.
- Ittah, Y., Kanner, J., Granit, R.** (1993). Hydrolysis study of carotenoid pigments of paprika (*Capsicum annum* L. variety Lehava) by HPLC/photodiode array detection. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 41, 899–901.
- Iwahashi, H.** (2000). Some polyphenols inhibit the formation of pentyl radical and octanoic acid radical in the reaction mixture of linoleic acid hydroperoxide with ferrous ions. *Biochem*, 346, 265-273.
- Joanny Menvielle-Bourg, F.** (2005). Plantes et vieillissement, données actuelles. *Phytothérapie*, Numéro 2, 57-71.

- Juntachote, T., Berghofer, E., Siebenhandl, S., & Bauer, F.** (2006). The antioxidative properties of Holy basil and Galangal in cooked ground pork. *Meat Science*, 72, 446-456.
- Kaloustian, J., Chevalier, J., Mikail, C., Martino, M., Abou, L., Vergnes, M.-F.** (2008). Etude de six huiles essentielles : composition chimique et activité antibactérienne. *Phytothérapie*, 6, 160–164.
- Kaur, C., Kapoor, H.C.** (2002). Anti-oxidant activity and total phenolic content of some Asian vegetables. *International Journal of Food and Technology*, 37, 153-161.
- Kelen, M., Tepe, B.** (2008). Chemical composition, antioxidant and antimicrobial properties of the essential oils of three *Salvia* species from Turkish flora. *Bioresource Technology*, 99, 4096–4104.
- Klein, B. P., et Perry, A. K.** (1982). Ascorbic acid and vitamin A activity in selected vegetables from different geographical areas of the United States. *Journal of Food Science*, 47, 941–948.
- Koyuncu, F.** (2004) Morphological and agronomical characterization of native black mulberry (*Morus nigra* L.) in Sutçuler, Turkey. *IPGRI News Lett* 138, 32–35.
- Kujala, T.S., Vienola, M.S., Klika, K.D., Loponen, J.M., Pihlaja, K.** (2002). Betalain and phenolic compositions of four beetroot (*Beta vulgaris*) cultivars. *Eur. Food Res. Technology*, 214 (6), 505–510.
- Lagiou, P., Wu, J., Trichopoulou, A., Hsieh, C.C., Adami, H.O., Trichopoulos, D.** (1999). Diet and benign prostatic hyperplasia: a study in Greece. *Urology*, 54, 284–90.
- Laguerre, M., López-Giraldo, L. J., Lecomte, J., Pina, M., & Villeneuve, P.** (2007). Outils d'évaluation *in vitro* de la capacité antioxydante. *OCL*, volume 14, numéro 5, 278-292.
- Lairon, D., Vincent, S., Defort, C.** (2006). Alimentation méditerranéenne et maladies cardiovasculaires : Analyse des études d'intervention. *Cah. Nutr. Diét.*, 41 (6), 335-340.
- Lambert, R.J.W., Skandamis, P.N., Coote, P., Nychas, G.J.E.** (2001). A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacrol. *J Appl Microbiol*, 91, 453-62.
- Le Houérou, H.N.** (1996). The role of cacti (*Opuntia* spp.) in erosion control, land reclamation, rehabilitation and agricultural development in the Mediterranean Basin. *J Arid Environ*, 33, 135-159.
- Léger, C.L.** (2006). Anti-oxydants d'origine alimentaire : diversité, modes d'action antioxydante, interactions. *Oléagineux, Corps Gras, Lipides*, volume 13, numéro 2, 213-222.
- Lliewell, B., et Gutteridge, J.M.C.** (1989). A consideration of atomic structure and bonding. *Free radicals in biology and medicine, second edition* b; Oxford, Clarendon press: 509-24

- Maataoui, B. S., et Hilali, S.** (2004). Composition physico-chimique de jus de deux types de fruits de figuier de Barbarie (*Opuntia ficus indica*) cultivés au Maroc. *Reviews in Biology and Biotechnology*, 3(2), 8-13.
- Maiza-Benabdesselam, F., Khentache1, S., Bougoffa, K., Chibane, M., Adach, S., Chapeleur, Y., Max, H., Laurain-Mattar, D.** (2007). Antioxidant activities of alkaloid extracts of two Algerian species of *Fumaria* : *Fumaria capreolata* and *Fumaria bastardii*. *Records of Natural Products*, 1,2-3.
- Mansouri, A., Embarek, G., Kokkalou, E., Kefalas, P.** (2005). Phenolic profile and antioxidant activity of the Algerian ripe date palm fruit (*Phoenix dactylifera*). *Food Chemistry*, 89, 411–420.
- Marin, A., Ferreres, F., Tomas-Barberan, F.A., Gil, M.I.** (2004). Characterization and quantitation of ,antioxidant constituents of sweet pepper (*Capsicum annum* L). *J. Agric. Food Chemistry*, 52, 3861-3869.
- Martinez-Tome, M., Jimenez, A., Ruggieri, S., Frega, N., Strabbioli, R., & Murcia, M.** (2001). Antioxidant properties of mediterranean spices compared with common food additives. *Journal of Food Protection*, 64, 1412–1419.
- Menvielle-Bourg, F.** (2005). Plantes et vieillissement, données actuelles. *Phytothérapie*, Numéro 2, 57-71
- Miliauskas, G., Venskutonis, P.R., Van Beek, T.** (2004). Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extracts. *Food Chemistry.*, 85, 231–237.
- Morelle, J., et Israel, L.** (2003). L'oxydation des aliments et la santé. *Edition Impression Librairie F-X. de Guibert*, PP : 257.
- Nebbache, S., Chibani A., Chadli R., et Bouznad, A.** (2009). Chemical composition of *Opuntia ficus-indica* (L.) fruit. *African Journal of Biotechnology* ,Volume 8 (8), pp 1623-1624.
- Nebel, S., Pieroni, A., Michael Heinrich, M.** (2006). Ta chorta: Wild edible greens used in the Graecanic area in Calabria, Southern Italy. *Appetite*, 47, 333–342.
- Negre-Salvayre, A ., et Salvayre, R.** (2005). Effet protecteur des acides gras contre le stress oxydatif : Implication en physiopathologie vasculaire. *OCL volume*, numéro 12 5-6,433-438.
- Nejjah, F., Ouhssine, M., Srhiri, A.A., El Yachoui, M., Hajjaji, N.** (2006). Activité Inhibitrice de la N-hexadécylbétaine sur *Staphylococcus aureu*. *Bull. Soc. Pharm. Bordeaux*, 145, 85-90.

- New, S.A., Robins, S.P., Campbell, M.K., Martin, J.C., Garton, M.J., Bolton-Smith, C., Grubb, D.A., Lee, S.J., Reid, D.M. (2000). Dietary influences on bone mass and bone metabolism: further evidence of a positive link between fruit and vegetable consumption and bone health. *Am J Clin Nutr*, 71, 142–51.
- Nicolas, M., et Daniel, C. (1998). Activités technologiques en microbiologie I - Techniques de base et méthodologie. Editeurs CRDP D'Aquitaine-Bordeaux, PP : 152.
- Novelli, G.P. (1997). Role of free radicals in septic shock. *J Physiol Pharmacol*, 48, 517-527.
- Okada, M., Okada, Y., Inaba, R., Iwata, H. (1998). Scavenging effects of methanolic extracts of broad beans on free-radical species. *Environmental and Preventive Medicine*, 3 (1), 6-11.
- Olanow, CW. (1992). An introduction to the free radical hypothesis in Parkinsons Disease. *Annals Neurol*, 3 (2), 2-9.
- Oyaizu, M. (1986). Studies on products of browning reaction: antioxidative activity of products of browning reaction. *Japanese Journal of Nutrition*, 44, 307-315.
- Pavia, M., Pileggi, C., Nobile, C.G.A., Angelillo, I.F. (2006). Association between fruit and vegetable consumption and oral cancer: a meta-analysis of observational studies. *Am J Clin Nutr*, 83, 1126–34.
- Pavlov, A., Kovatcheva, P., Georgiev, V., Koleva, I., Ilieva, M. (2002). Biosynthesis and radical Scavenging activity of betalains during the cultivation of red beet (*Beta Vulgaris*) hairy root cultures. *Z. Naturforsch*, 57c, 640–644.
- Perucka, I., Materska, M. (2007). Antioxydant vitamin contents of *Capsicum annuum* fruit extracts as affected by processing and varietal factors. *Acta Sci. Pol., Technol. Aliment*, 6(4), 67-74.
- Peyrat-Maillard, M.N., Cuvelier, M.E., & Berset, C. (2003). Antioxidant Activity of Phenolic Compounds in 2,2'-Azobis (2-amidinopropane) Dihydrochloride (AAPH)-Induced Oxidation: Synergistic and Antagonistic Effects. *JAOCS*, 80, no. 10, 1007-1012.
- Piccaglia, R., Marotti, M., Giovanelli, E. (1993). Antibacterial and antioxidant properties of Mediterranean aromatic plants. *Industrial crops and Products*, 2, 47-50.
- Pincemail, J., Defraigne, J.O. (2004). Les antioxydants: un vaste réseau de défenses pour lutter contre les effets toxiques de l'oxygène. *Symposium « Antioxydants et alimentation », Institut Danone, Bruxelles, 23/10/2004.*

- Rabaud, Ch., Tronel, H., Fremont, S., May, T., Canton, P., Nicolas, J.-P.** (1997). Radicaux libres et infection par le VIH. *Annales de Biologie Clinique*, volume 55, numéro 6, 565-571.
- Randhir, R., Kwon, Y-I., Lin, Y-T., Shetty, K.** (2009). Effect of thermal processing on the phenolic associated health-relevant functionality of selected legume sprouts and seedlings. *Journal of Food Biochemistry* ,33, 89–112.
- Randhir, R., Lin, Y.T., Shetty, K.**( 2004). Stimulation of phenolics,antioxidant and antimicrobial activities in dark germinated mung bean sprouts in response to peptide and phytochemical elicitors. *Process. Biochemistry*. 39, 637–646.
- Randhir, R., Shetty, P., Shetty, K.** (2002). L-DOPA and total phenolic stimulation in dark germinated fava bean in response to peptide and phytochemical elicitors. *Process Biochemistry* ,37, 1247–1256.
- Rapavi, E., Szentmihaly, K.A., Lugasi, A., Vagi, E., Banyai, É A., Balazs, A., Szoke, É., et Blazovics, A.**(2006) The influence of the steeping time on the antioxidant properties of a Chinese herbal tea. *Acta Alimentaria* ,35 (2), 213–222.
- Raybaudi-Massilia, R.M., Mosqueda-Melgar, J., Martín-Belloso, O.** (2009). Antimicrobial activity of malic acid against *Listeria monocytogenes*, *Salmonella Enteritidis* and *Escherichia coli* O157:H7 in apple, pear and melon juices. *Food Control* , 20,105–112.
- Riboli, E., Norat, T.** (2003). Epidemiologic evidence of the protective effect of fruit and vegetables on cancer risk. *Am J Clin Nutr*,78(suppl),559S–69S.
- Rice-Evans, C.A., Miller, N.J., Paganga, G.** (1997). Antioxidant properties of phenolic compounds. *Trends Plant Sci*, 2, 152–159.
- Rohrmann, S., Giovannucci, E., Willett, WC., Platz, E.A.** (2007). Fruit and vegetable consumption, intake of micronutrients, and benign prostatic hyperplasia in US men. *Am J Clin Nutr*, 85,523–9.
- Rolland, Y.** (2004).Antioxydants naturels végétaux. *OCL*, volume. 11, numéro 6, 419-424.
- Ruberto, G., Baratta, MT., Sari, M., Kaâbeche, M.**(2002). Chemical composition and antioxidant activity of essential oils from Algerian *Origanum glandulosum* Desf. *Flavour and Fragrance Journal* ,17 (4), 251-254.
- Sampayo, J.N., Gill, M.S., Lithgow, G.J.** (2003). Oxidatif stress and ageing-the use of superoxide dismutase / catalase mimetics to extend lifespan. *Biochemical Society Transactions*, 31, 1305-1307.
- Sarni-Manchado, P., cheynier, V.** (2006). Les polyphénols en agroalimentaire. *Editions TEC et DOC*, pp 398.

- Scalzo, J., Politi, A., Pellegrini, N., Mezzetti, B., Battino, M. (2005). Plant genotype affects total antioxidant capacity and phenolic contents in fruit. *Nutr* ,21, 207–213.
- Seidemann, J. (1995). Zur Kenntnis von wenig bekannten exotischen Früchten. 5. Mitt.: Baumerdbeere (*Arbutus unedo* L.). *Dtsch. Lebensmittel-Rdsch.* 91, 110-113.
- Shahidi Bonjar, G.H. (2004) . Antibacterial screening of plants used in Iranian folkloric medicine. *Fitoterapia*, 75, 231–235.
- Shan, B., Cai, Y.-Z., Brooks, J., Corke, H. (2007). The in vitro antibacterial activity of dietary species and medicinal herb extracts. *International Journal of Food Microbiology* ,117, 112–119.
- Shetty, P., Atallah, M.T., Shetty, K. (2003). Stimulation of total phenolics, L-DOPA and antioxidant activity through proline-linked pentose phosphate pathway in response to proline and its analogue in germinating fava beans (*Vicia faba*). *Process Biochemistry*, 38, 1707-1717.
- Shunying, Z., Yang, Y., Huaidong, Y. (2005). Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils of *Chrysanthemum indicum*. *J Ethnopharmacol*, 96, 151-8.
- Sijelmassi, A. (1991). Les plantes médicinales du Maroc. 2<sup>e</sup> éd, *Le Fennec*, p 199.
- Sikora, E., Cieřlik, E., Topolska, K.(2008). The source of natural antioxidants. *Acta Sci. Pol., Technol. Aliment*, 7(1), 5-17.
- Steffen, L.M., Jacobs Jr, D.R., Stevens, J., Shahar, E., Carithers, T., Folsom, A.R . (2003). Associations of whole-grain, refined-grain, and fruit and vegetable consumption with risks of all-cause mortality and incident coronary artery disease and ischemic stroke: the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study. *Am J Clin Nutr* 2003;78:383–90.
- Stintzing, F., et Carle, R. (2004). Functional properties of anthocyanins and betalains in plants, food, and in human nutrition. *Trends in Food Science and Technology* ,15, 19–38.
- Stintzing, F.C., Schieber, A., Carle, R. (2002). Identification of betalains from yellow beet (*Beta vulgaris* L.) and cactus pear [*Opuntia ficus-indica* (L.) Mill.] by high-performance liquid chromatography-electrospray ionization mass spectrometry. *J Agric Food Chemistry*,50,2302-7.
- Stone, N.J. (2001). Lowering low-density cholesterol with diet: the important role of functional foods as adjuncts. *Coron Artery Dis* ,12,547–52.
- Talcott, S.T., et Howard, L.R. (1999). Phenolic autoxidation is responsible for color degradation in processed carrot puree. *J.Agric. Food chemistry*,47,2109-2115.
- Tappel, A.L.(1968). Will antioxidant nutrients slow aging process? *Geriatrics* ,23 , 97-105.

- Tesoriere, L., Fazzari, M., Angileri, F., Gentile, C., Livrea, M.A.** (2008). In vitro digestion of betalainic foods. Stability and bioaccessibility of betaxanthins and betacyanins and antioxidative potential of food digesta. *J Agric Food Chemistry*, 56(22),10487-92.
- Toussaint, J-F., Jacob, M-P., Lagrost, L., Chapman, J.**(2003).L'athérosclérose : physiopathologie, diagnostics, thérapeutiques.*Edition Masson*, 776 p.
- Tozanli, S., Padilla, M., Gherzi, G.** (2003). Impact de l'application des normes internationales sur la sécurité alimentaire des populations dans les pays du Sud et de l'Est de la Méditerranée. In : Fanfani, Roberto (ed.); Brasili, Cristina (ed.). - Perspective of the Agri-food system in the new Millenium. Bologne (ITA) : CLUEB Cooperativa Libreria Universitaria Editrice Bologna, p. 469-492 : 31 réf., 10 tabl., 4 graph. International Symposium. 4; 2003/09/05-08; Bologne (ITA).
- Tutin, G.T.**(1996). Morus L. In: Tutin, G.T., Burges, N.A., Chater, A.O., Edmondson, J.R., Heywood, V.H., Moore, D.M., Valentine, D.H., Walters, S.M., Webb, D.A. (Eds.), Flora Europa, Psilotaceae to Platanaceae, 2<sup>nd</sup> ed., volume. 1. Cambridge University Press, Australia.
- Ultee, A., Kets, EPW., Smid, E.**(1999) .Mechanisms of action of carvacrol on the Food-borne pathogen Bacillus cereus. *Appl Environ Microbiol* ,65, 4606-10.
- **Vergely, C., et Rochette, L.** (2003). Stress oxydant dans le domaine cardiovasculaire. *Médecine thérapeutique Cardiologie*, Volume 1, Numéro 3, 131-139.
- Voravuthikunchai, S., Sririrak, T., Limsuwan, S., Supawita, T., Iida, T., Honda, T.** (2005). Inhibitory effects of active compounds from Punica granatum pericarp on verocytotoxin production by enterohemorrhagic Escherichia coli O157: H7. *Journal of Health Sciences*, 51, 590–596.
- Yildirim, A., Mavi, A., et Kara, A.**( 2001). Determination of antioxidant and antimicrobial activities of *Rumex crispus L.*extracts. *J. Agr. Food Chemistry*, 49, 4083-4089.

**Sites Internet:**

<http://michel.delorgeril.info>

<http://www.americanheart.org>

<http://www.regime-mediterraneen.fr>

<http://iqa.vendee.fr>

# Annexes

**Annexe 1**  
**photographie des fruits, légumes et**  
**plantes médicinales**



**Nom commun/(kabyle) :** Raisins rouges /(Hmar-bouaamar)  
**Origine:** Bouzeguène



Raisins blancs  
 Bouzeguène



Raisins blancs /(Muska)  
 Bouzeguène



**Nom commun/(kabyle) :** Raisins noirs  
**Origine :** Bouzeguène



Figue blanche /(Méloui)  
 Bouzeguène



Figue noire /(Ajenjer)  
 Bouzeguène



**Nom commun/(kabyle) :** Figue rouge /(Aankik)  
**Origine :** Bouzeguène



Figue noire /(Avarann)  
 Bouzeguène



Datte du nord jaunâtre  
 Boumerdès



**Nom commun :** Datte du nord grenat  
**Origine :** Boumerdès



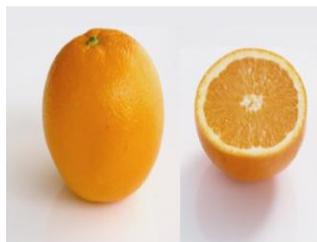
Datte du nord grenat à noyau  
 Rouiba



Datte degla-beida  
 Marché de Boumerdès



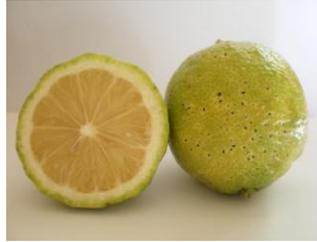
**Nom commun :** Datte noire  
**Origine :** Biskra



Orange  
 Marché de Réghaia



**Nom commun / (Kabyle) :**  
Arbouse/ (Ississnou)  
**Origine :** Bouzeguène



**Citron**  
**Rouiba**



**Plaquemine**  
**Larbaa-nath-irathen**



**Nom commun :** Grenade  
**Origine :** Bouzeguène



**Coing**  
**Bouzeguène**



**Mûres sauvages**  
**Bouzeguène**



**Nom commun :** Figue de  
barbarie  
**Origine :** Bouzeguène



**Melon**  
**Marché de Réghaia**



**Pastèque**  
**Marché de Réghaia**



**Nom commun :** Olive verte  
**Origine :** Barbacha



**Olive noire**  
**Barbacha**



**Olive violette**  
**Barbacha**



**Nom commun/ (Kabyle) :** Olive  
de table verte  
**Origine :** Barbacha



**Olive de table/ (Emchelah)**  
**Barbacha**



**Nom commun :** Citrouille  
**Famille :** *Cucurbitaceae*  
**Origine :** Bouzeguène



**Nom commun :** Chou fleur  
**Famille :** *Brassicacées (crucifères)*  
**Origine :** Marché de Réghaia



**Nom commun :** Concombre  
**Famille :** *Cucurbitaceae*  
**Origine :** Marché de Réghaia



**Nom commun :** Aubergine  
**Famille :** *Solanacées*  
**Origine :** Marché de Réghaia



**Nom commun :** Betterave  
**Famille :** *Chénopodiacées*  
**Origine :** Marché de Réghaia



**Nom commun :** Poivron  
**Famille :** *Solanacées*  
**Origine :** Marché de Réghaia



**Nom commun :** Courgette  
**Famille :** *Cucurbitaceae*  
**Origine :** Marché de Réghaia



**Nom commun :** Fenouil  
**Famille :** *Apiacées (ombellifères)*  
**Origine :** Marché de Réghaia



**Nom commun :** Chardon  
**Famille :** *Astéracées (Composées)*  
**Origine :** Bouzeguène



**Nom commun :** Tomato  
**Famille :** *Solanacées*  
**Origine :** Marché de Réghaia



**Nom commun :** Carotte  
**Famille :** *Apiacées (ombellifères)*  
**Origine :** Marché de Réghaia



**Nom commun :** Poivron rouge  
**Famille :** *Solanacées*  
**Origine :** Marché de Réghaia



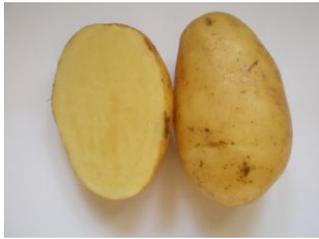
**Nom commun :** Haricot vert  
**Famille :** *Fabacées (Papilionacées)*  
**Origine :** Marché de Réghaia



**Nom commun :** Oignon  
**Famille :** *Liliacées*  
**Origine :** Marché de Réghaia



**Nom commun :** Ail  
**Famille :** *Liliacées*  
**Origine :** Bouzeguène



**Nom commun :** Pommes De Terre  
**Famille :** *Solanacées*  
**Origine :** Marché de Réghaia



**Nom commun :** Chou vert  
**Famille :** *Brassicacées (crucifères)*  
**Origine :** Marché de Réghaia



**Nom commun :** Cardon  
**Famille :** *Astéracées (Composées)*  
**Origine :** Bouzeguène



**Nom commun :** Navet  
**Famille :** *Brassicacées (crucifères)*  
**Origine :** Marché de Réghaia



**Nom commun :** Artichaut  
**Famille :** *Astéracées (Composées)*  
**Origine :** Marché de Réghaia



**Nom commun :** Petit-pois  
**Famille :** *Fabacées (Papilionacées)*  
**Origine :** Marché de Réghaia



**Nom commun :** Blette  
**Famille :** *Chénopodiacées*  
**Origine :** Marché de Réghaia



**Nom commun :** Fève  
**Famille :** *Fabacées (Papilionacées)*  
**Origine :** Bouzeguène



**Nom commun :** Menthe pouliot  
**Nom scientifique :** *Mentha pulegium L*  
**Famille :** *Lamiaceae*  
**Nom kabyle :** Felgou  
**Origine :** Bouzeguène



Laurier  
*Laurus nobilis L*  
*Lauraceae*  
Thasselth  
Bouzeguène



**Nom commun :** Origan  
**Nom scientifique :** *Origanum vulgare*  
**Famille :** *Lamiaceae*  
**Nom kabyle :** Zaathar  
**Origine :** Bouzeguène



Lavande  
*Lavandula angustifolia*  
*Lamiaceae*  
A me zire  
Bouzeguène



**Nom commun :** Armoise  
**Nom scientifique :** *Artemisia vulgaris*  
**Famille :** *Asteraceae*  
**Nom kabyle :** Chih  
**Origine :** Marché de Boumerdes



Myrte  
*Myrtus communis L*  
*Myrtaceae*  
Chilmoune  
Bouzeguène

# Annexes 2

## **Matériel utilisé**

Balance analytique, type Sartorius ;

centrifugeuse, type HERMLE Z 323 K ;

étuve, type Heraeus ;

spectrophotomètre UV-visible, type Jasco V-530.

étuve, type memmert ;

autoclave, type Trade Raypa ;

Ph-mètre 3310 Jenway ;

bain marie, type memmert.

## Article original

### Pharmacognosi

# Activités antioxydantes de quelques fruits communs et sauvages d'Algérie

T. Allane, S. Benamara

Département de technologie alimentaire (FSI), université de Boumerdès, avenue de l'Indépendance 35000, Algérie

Correspondance : sbenamara2001@yahoo.fr

**Résumé :** Les activités antioxydantes (AA) de 27 fruits provenant principalement du nord algérien sont analysées par mesure du pouvoir réducteur du fer (III) à fer (II). De tous les fruits étudiés, la fraction (pulpe + pelure) des baies de l'arbre à fraises (*Arbutus unedo* L.), les mûres sauvages (*Morus nigra* L.) et les dattes (*Phoenix dactylifera* L.) noires arrondies montrent des AA plus élevées : 2 049, 1 115 et 1 091 mg de vitamine C par 100 g de masse fraîche (mf) respectivement. L'effet synergique (ES), calculé uniquement pour les pelures de trois fruits est de  $1,29 \pm 0,04$  (arbousier/datte grenat à noyaux),  $1,74 \pm 0,07$  (arbousier/raisins noirs),  $2,24 \pm 0,11$  (dattes grenat à noyau/raisins noirs) et  $1,45 \pm 0,05$  (arbousier/datte grenat à noyau/raisins noirs). L'indice d'hétérogénéité (IH) introduit dans cette étude renseigne sur la répartition des substances antioxydantes entre les différentes parties des fruits étudiés.

**Mots clés :** Activité antioxydante – Fruits – Effet synergique – Indice d'hétérogénéité

## Antioxidant activities of some common and wild fruits from Algeria

**Abstract:** Antioxidant activities (AA) of 27 fruits from northern Algeria were studied by measurement of iron (III) to iron (II)-reducing power. Among the investigated fruit fractions, the (pulp + peel) part of arbutus berries (*Arbutus unedo* L.), wild mulberry (*Morus nigra* L.) and round black date (*Phoenix dactylifera* L.) showed greater antioxidant activities: 2 049, 1 115 and 1 091 mg vitamin C/100 g wet weight (ww) respectively. Also, the AA of peels and seeds were separately investigated. Mixture effect (ME), calculated for only three fruit peels, is of  $1.29 \pm 0.04$  (arbutus/garnet wild stone date),  $1.74 \pm 0.07$  (arbutus/black grapes),  $2.24 \pm 0.11$  (garnet wild stone dates/black grapes) and  $1.45 \pm 0.05$  (arbutus/garnet wild stone date/black grapes). The introduced heterogeneous index (HI)

indicated a large variability in the distribution of anti-oxidant substances between different parts of the fruits studied.

**Keywords:** Antioxidant activity – Fruits – Mixture effect – Heterogeneous index

## Introduction

Ces dernières années, la consommation d'aliments d'origine végétale suscite un intérêt toujours croissant auprès des consommateurs [15]. Ce phénomène social est certainement lié à la prise de conscience quant à la relation de cause à effet entre la qualité des aliments et la santé. L'activité antioxydante (AA) des composants chimiques et biochimiques des plantes, les fruits en particulier, représente un des critères stimulant leur consommation. En effet, des études épidémiologiques ont démontré que la prise de fruits est associée à une réduction de plusieurs pathologies comme les accidents cardiovasculaires [12]. Comme substances chimiques avec un potentiel antioxydant élevé on peut noter les vitamines C, E,  $\beta$ -carotène ainsi que les polyphénols [10,19,23]. Aussi, est-il souvent souligné que la pelure et les noyaux se caractérisent, comparés à la pulpe, par une plus importante AA [6,14,25].

Même s'il n'y a pas de travaux consacrés à la consommation des fruits sauvages en Algérie, des études ont toutefois relevé l'intérêt nutritionnel de ces espèces chez les populations rurales des pays tropicaux [5].

Dans le présent travail, lequel devant être perçu comme une ébauche à une analyse plus approfondie mais plus ciblée, la méthode du pouvoir réducteur du fer (III) au fer (II) est utilisée pour évaluer l'AA de la pelure, de la pulpe et des noyaux (ou pépins) de 27 fruits dont 21 sont communs et six sauvages. Excepté les dattes Degla-Beida et les dattes noires arrondies provenant du Sahara, les autres types de fruits sont issus du nord algérien et plus particulièrement de la région de Kabylie.

## Matériel et méthodes

### Préparation des extraits

Les fruits sont soit achetés au marché local de Boumerdès (40 km à l'est d'Alger), soit cueillis par nous-mêmes en automne 2008 dans la partie septentrionale du territoire de la commune de Bouzeguène dans la wilaya de Tizi-Ouzou (160 km à l'est d'Alger baies de l'arbousier, mûres sauvages,

tous les raisins et toutes les figues, les figues de barbarie, les grenades et le coing) ou dans la ville de Boumerdès (les deux dattes grenat à noyau et à noyau négligeable et les dattes jaunes, toutes les trois étant non comestibles). Chaque fruit est d'abord lavé avec de l'eau distillée puis l'excès d'eau est enlevé avec du papier absorbant avant de séparer, quand cela est possible, la pelure, la pulpe et les noyaux. Les fruits ainsi que les différentes parties étudiées sont listés dans les Tableaux 1 et 2.

**Tableau 1.** Activités antioxydantes d'extraits aqueux de fruits communs et sauvages de catégories «+++» et «++»<sup>a</sup>

Numéro	Fruit	Pelure	Pulpe	Noyau	I	Pelure + pulpe
1	Arbousier (fruit)	1 434,07 ± 72,43	614,53 ± 25,88	nd	2	+++ 2 049
2	Mûres sauvages	nd	1 115,16 ± 6,32	nd	nd	+++ 1 115
3	Datte noire	457,35 ± 33,97	634,27 ± 59,33	1 427,49 ± 18,97	3	+++ 1 091
4	Datte grenat n	790,94 ± 11,37	192,86 ± 3,31	1 653,25 ± 15,59	9	++ 984
5	Datte grenat	741,08 ± 24,36	221,97 ± 1,16	nd	3	++ 962
6	Raisins noirs	815,24 ± 51,62	81,99 ± 8,53	798,79 ± 12,22	10	++ 896
7	Figues noires	731,46 ± 36,49	87,83 ± 10,77	nd	8	++ 819
8	Dattes DB	449,76 ± 10,36	364,21 ± 16,68	1 729,18 ± 69,41	5	++ 814
9	Coing	421,16 ± 11,06	374,84 ± 53,04	nd	1	++ 796
10	Plaquemine	310,81 ± 8,36	413,57 ± 12,64	nd	1	++ 725
11	Raisins blancs	590,48 ± 28,15	90,86 ± 11,87	1 628,95 ± 98,77	18	++ 681
12	Datte jaunâtre	419,89 ± 11,93	254,62 ± 23,55	1 713,49 ± 23,64	7	++ 675
13	Olive verte f	nd	667,17 ± 10,20	152,11 ± 21,96	4	++ 667
14	Raisins rouges	400,40 ± 41,65	100,48 ± 4,88	1 751,46 ± 38,46	18	++ 500

<sup>a</sup> Classification selon la partie généralement comestible (pelure + pulpe) ; «+++» = AA ≥ 1 000 ; «++» = 500 ≤ AA < 1 000 mg de vitamine C/100 g (mf) ; nd = non déterminé ; les abréviations ainsi que le nom vernaculaire local de certains fruits sauvages et/ou moins usités quand il est connu (donné en italique entre parenthèses) : datte grenat n = datte grenat à noyau (variété du nord non consommée) ; datte grenat = datte grenat à noyau négligeable (non consommée) ; dattes DB = dattes Degla-Beida (*Degla-Beida*) [comestibles et elles sont de faible valeur marchande] ; olive verte f = olive verte fraîche ; arbousier (fruit) = (*acesnou*) ; mûres sauvages (*thizwal*) ; figues noires = (*av'rane*) ; coing = (*thakthounya*).

**Tableau 2.** Activités antioxydantes d'extraits aqueux de fruits communs et sauvages de catégories «+» et «-»<sup>a</sup>

Numéro	Fruit	Pelure	Pulpe	Noyau	IH	Pelure + pulpe
1	Figue noir c	323,97 ± 29,37	97,70 ± 4,88	nd	3	+ 419
2	Figue violette	322,96 ± 1,91	91,37 ± 7,79	nd	4	+ 414
3	Citron	118,20 ± 6,37	346,75 ± 26,54	nd	3	+ 347
4	Raisins Muska	249,56 ± 9,49	65,30 ± 5,31	1 388,00 ± 31,56	21	+ 315
5	Grenade	1 742,85 ± 34,84	275,12 ± 12,30	198,68 ± 5,39	9	+ 275
6	Olive vf	nd	247,03 ± 7,61	1 054,42 ± 15,51	4	+ 247
7	Olive nf	nd	239,43 ± 4,88	930,40 ± 26,14	4	+ 239
8	Figue blanche	102,76 ± 11,92	112,12 ± 7,68	nd	1	+ 215
9	Melon	526,96 ± 11,49	136,42 ± 6,14	111,36 ± 8,36	5	+ 136
10	Orange	443,18 ± 36,02	101,24 ± 0,88	nd	4	+ 101
11	Figue de b	239,69 ± 8,77	96,94 ± 10,31	110,86 ± 6,22	2	+ 97
12	Olive vtt	nd	57,20 ± 3,75	132,37 ± 4,58	2	+ 57
13	Olive tv	nd	30,63 ± 3,82	110,35 ± 9,91	4	- 31

«+» = 50 ≤ AA < 500 ; «-» : AA < 50 mg de vitamine C/100 g (mf) ; nd = non déterminé ; les abréviations ainsi que le nom vernaculaire local de certains fruits sauvages et/ou moins usités quand il est connu (donné en italique entre parenthèses) : figue noir c = figue noir clair (*jenjer*) ; olive vf = olive violette fraîche ; olive nf = olive noire fraîche ; figue de b = figue de barbarie (*akermous*) ; olive vtt = olive verte de table traditionnelle (désamérisée avec les cendres de bois dans la région de Béjaïa) ; olive tv = olive de table verte désamérisée avec la soude ; figue violette = (*Ai'nkik*) ; figue blanche = (*melwi*).

<sup>a</sup> Classification selon la partie généralement comestible (pelure + pulpe)

La préparation des extraits est réalisée selon la procédure déjà utilisée par d'autres auteurs avec une légère modification [14]. En bref, une petite quantité de chaque fraction de fruit est triturée dans un mortier. À une portion d'environ 1 g de la masse homogénéisée est ajoutée l'eau distillée (1:50 P/V) et le mélange est immédiatement centrifugé à 6 000 g pendant dix minutes à 4 °C (centrifugeuse Hermle Z 323 K). Le surnageant est directement utilisé pour la mesure de l'AA. Les mesures sont répétées trois fois.

### Mesure de l'activité antioxydante

LAA quantifiée par le biais du pouvoir réducteur selon la procédure décrite par Oyaizu [20], indique l'aptitude des extraits à réduire le fer (III) en fer (II). Le mécanisme est connu comme étant un indicateur de l'activité donatrice d'électrons, caractéristique de l'action antioxydante des polyphénols [26]. Une quantité aliquote (1 ml) de chaque extrait est mélangée avec 2,5 ml de tampon phosphate (0,2 M, pH : 6,6) et 2,5 ml de solution aqueuse d'hexacyanoferrate de potassium [ $K_3Fe(CN)_6$ ] à 1 %. Après 30 minutes d'incubation à 50 °C, 2,5 ml de la solution d'acide trichloracétique à 10 % est ajoutée et le mélange est ensuite centrifugé pendant dix minutes. Une aliquote (2,5 ml) du surnageant est combiné avec 2,5 ml d'eau distillée et 0,5 ml de solution aqueuse de  $FeCl_3$  à 0,1 % puis l'absorbance est mesurée à 700 nm (spectrophotomètre UV/VIS de marque Jasco V-530) : une absorbance élevée indique une AA élevée. Les résultats (moyenne de trois mesures), dans le souci d'en rendre plus accessible la portée, sont exprimés en équivalents d'acide ascorbique (mg acide ascorbique/100 g de masse fraîche (mf) de fruit, unité qui peut être convertie en moles ou en millimoles d'acide ascorbique/100 g (mf) sachant que la masse moléculaire de l'acide ascorbique = 176). En prenant comme référence la teneur moyenne approximative en vitamine C de l'orange (50 mg/100 g (mf) de fruits), les valeurs des AA des échantillons sont arbitrairement classées en quatre catégories : « +++ » :  $AA \geq 1\ 000$ , « ++ » :  $500 \leq AA < 1\ 000$ , « + » :  $50 \leq AA < 500$ , « - » :  $AA < 50$  mg de vitamine C/100 g (mf).

### Effet synergique (ES) et indice d'hétérogénéité (IH)

L'ES de quelques extraits de pulpes est calculé comme suit [21] :

$$ES = AA_{exp} / AA_{cal}$$

où  $AA_{exp}$  = valeur de l'AA expérimentale et  $AA_{cal}$  = AA calculé selon la somme des valeurs de l'AA de tous les extraits du mélange x leurs fractions volumiques dans le mélange (1/2 ou 1/3 pour les combinaisons binaires ou ternaires respectivement). En fonction des valeurs des ES, il y a, entre les extraits, synergisme ( $ES > 1$ ), antagonisme ( $ES < 1$ ) ou ni synergisme ni antagonisme ( $ES = 1$ ).

Il nous a paru intéressant d'introduire l'IH défini comme :

$$IH = AA_{max} / AA_{min}$$

où  $AA_{max}$  et  $AA_{min}$  = AA respectivement maximale et minimale obtenues pour chaque fruit.

En fait, nous nous sommes inspirés, pour cet indice, de la théorie de l'ionisation des aliments lorsqu'il s'agit de rendre compte de l'hétérogénéité des doses de rayonnements appliquées sur une denrée alimentaire. Un écart important de la valeur 1 indique une hétérogénéité importante dans la distribution des substances antioxydantes dans les différentes parties des fruits étudiés.

### Analyse statistique

Les résultats sont exprimés sous forme de moyenne  $\pm$  écart-type ( $n = 3$ ). Le logiciel XLSTAT est utilisé pour l'analyse de la variance (Anova).

## Résultats et discussion

### Activité antioxydante

La recherche scientifique ne cesse pas d'investir tous les aspects liés à l'étude de l'AA de produits végétaux. À cet effet, de nombreuses méthodes (y compris celle décrite dans le présent travail) recourant à l'eau distillée comme solvant d'extraction sont utilisées [4,9,11].

Comparativement à tous les autres fruits étudiés, la fraction (pelure + pulpe) des baies de l'arbousier montre un très fort pouvoir réducteur, suivie par les mûres sauvages et les dattes noires arrondies (Tableaux 1 et 2). Concernant le fruit de l'arbre à fraises, nos résultats sont en concordance avec ceux trouvés par d'autres auteurs [24], lesquels ont présenté le classement des AA dans l'ordre décroissant suivant : fruits de l'arbousier >> fraises communes (six variétés) >> kiwi = pommes (cinq variétés) = abricots = pêches.

Ces trois espèces de fruits forment la première catégorie notée « +++ » de la classification adoptée dans cette étude avec une AA supérieure à 1 000 mg de vitamine C/100 g (mf) (Tableau 1). En se fondant sur les données de la littérature (Tableau 3), les fortes valeurs des AA des baies de l'arbousier et des mûres sauvages peuvent être expliquées par leurs teneurs élevées en vitamine C et en polyphénols

**Tableau 3.** Quelques données de littérature sur la teneur en vitamine C et en polyphénols de quelques fruits communs et sauvages

Fruit	Teneur en vitamine C	Teneur en polyphénols	Référence
Arbouse	346 mg/100 g (MS)	146 mg/100 g de fruit sec	[17]
Mûres s	17 mg/100 ml de jus	200 mg EAG/100 g (MH) <sup>b</sup>	[18]
Dattes A <sup>a</sup>	–	2,5–8 mg EAG/100 g (MH)	[19]

<sup>a</sup> Dattes d'Algérie.

<sup>b</sup> EAG = équivalents d'acide gallique ; MH = masse humide.

totaux respectivement. Il est connu en outre que les fruits colorés sont riches en polyphénols. En revanche, il apparaît difficile de corrélérer, dans le cas de la datte noire, le pouvoir antioxydant avec la concentration en vitamine C et/ou en polyphénols dans la partie comestible du fruit. En effet, il a été rapporté que les dattes sont globalement pauvres en vitamine C tandis que leurs teneurs en polyphénols fluctuent considérablement d'une variété à l'autre (Tableau 3). Toutefois, les polyphénols analysés dans les dattes iraniennes semblent exercer une grande influence sur l'AA des fruits, laquelle est déterminée par deux différentes méthodes [8]. Nous pensons que le type de molécules phénoliques, plutôt que la concentration de ces dernières, influence d'une manière conséquente les valeurs de l'AA tout en tenant compte du fait que des substances actives trouvées dans des extraits méthanoïques de certaines plantes présentent une faible valeur de l'AA. De plus, le fruit de dattes, déjà connu traditionnellement pour ses vertus médicinales [7], peut être une excellente source de sélénium qui est un oligo-élément doté d'un pouvoir antioxydant avéré [3].

La deuxième catégorie de fruits, notée « ++ » (Tableau 1), présente cette caractéristique de contenir des fruits qui, même intensément colorés (raisins noirs, figue noire, olive verte fraîche, raisins rouges), montrent néanmoins un pouvoir antioxydant parfois deux fois plus faible que celui de la première catégorie. Il en est ainsi aussi du troisième groupe de fruits désigné par « + » (Tableau 2) : figues violettes, grenade, olives noires fraîches. Notons enfin la présence dans la quatrième et dernière catégorie (marquée « - ») (Tableau 2) de la seule olive verte de table désamérisée avec la soude et qui voit son pouvoir antioxydant baisser plus de 20 fois par rapport à l'olive verte fraîche. Cette chute peut s'expliquer par l'action de l'alcali sur les substances actives. La valeur de l'AA de l'olive verte traitée avec les cendres de bois (de nature alcaline) confirme en quelque sorte cet effet négatif des pH élevés même si dans ce dernier cas au moins la valeur de l'AA dépasse la valeur critique de 50 mg de vitamine C que nous nous sommes fixés comme référence (teneur moyenne en vitamine C du jus d'orange).

Concernant les pelures analysées (Tableaux 1 et 2), celle de la grenade occupe incontestablement la première place (ayant une AA la plus élevée, obtenue dans cette étude) suivie du fruit de l'arbousier, de la datte grenat à noyau et des raisins noirs. D'autres chercheurs utilisant une autre méthode d'investigation ont déjà révélé les hautes valeurs en AA des dattes et des pulpes pourpres ainsi que de la pelure du grenadier [14]. Il convient de rappeler ici que la couleur d'un fruit est influencée par la concentration et la distribution des différents anthocyanines dans leurs peaux [13].

De tous les pépins et noyaux étudiés (16 espèces), huit (raisins rouges, blancs et Muska, dattes jaunes, dattes noires, dattes grenat à noyau et dattes Degla-Beida, olives violettes fraîches) montrent une AA dépassant 1 000 mg de vitamine C/100 g (mf). Les pépins des raisins noirs (par opposition à leurs parties comestibles) et les grignons d'olives noires fraîches (concordance ici avec la partie comestible) ont des AA qui les classent dans le deuxième groupe « ++ »

de la classification utilisée présentement tandis que tous les autres noyaux et pépins analysés dans le présent travail figurent dans la troisième catégorie « + ». En fait, beaucoup de travaux sont consacrés à l'AA d'extraits de noyaux et de pépins et tout particulièrement ceux de raisins qui sont utilisés comme ingrédients dans les suppléments diététiques et/ou dans la conservation des aliments [1].

### Effet synergique et indice d'hétérogénéité de trois extraits de pelures

Les Figures 1a et b montrent respectivement les AA absolues et les ES des extraits aqueux obtenus à partir des pelures de fruits de l'arbousier, des raisins noirs et des dattes grenat à noyau. Un ES est observé pour toutes les combinaisons étudiées. En s'appuyant sur les valeurs de l'ES de la Figure 1b, la classification suivante peut être établie : datte grenat à noyau/raisins noirs > au fruit d'arbousier/raisins noirs > au fruit d'arbousier/raisins noirs/dattes grenat à noyau > aux dattes grenat à noyau/fruit d'arbousier. Il est aisé de relever à partir de la Figure 1a qu'il n'existe pas de différences significatives ( $p < 0,05$ ) entre les AA des extraits individuels issus des dattes grenat à noyau et des raisins noirs, mais elles sont significativement différentes, comparées à celles de leur mélange. Il n'y a pas toutefois de différences significatives entre les AA des extraits des peaux de fruits de l'arbousier et les deux mélanges : dattes grenat à noyau/fruits de l'arbousier et fruits de l'arbousier/dattes noires/dattes grenat à noyau. Il est possible de noter à partir des Figures 1a et b une assez bonne corrélation entre les AA absolues et les ES des extraits de pulpes analysés.

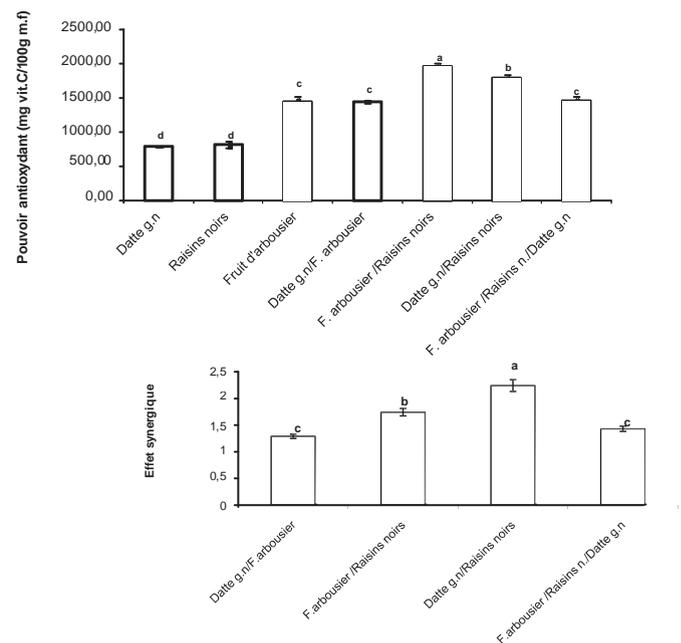


Fig. 1a et b. Valeurs des AA des extraits aqueux de pelures de trois différents fruits et de leurs mélanges (a) et des effets synergiques calculés ES (b); datte gn = datte grenat à noyau; f. arbousier = fruit d'arbousier; raisins n = raisins noirs.

(a, b, c) Les valeurs portant différentes lettres sont significativement différentes ( $p < 0,05$ ).

Les différences observées dans les valeurs absolues des AA et des ES peuvent être attribuées aux différences de composition qualitative et quantitative en polyphénols. Le mécanisme d'action de ces derniers est en effet essentiellement attribué à la chélation des ions métalliques [16]. À cela s'ajoute le fait que l'action synergique entre différents antioxydants est très complexe, car chaque molécule antioxydante est en mesure de devenir un agent pro-oxydant [22].

Quant au paramètre IH, les valeurs volontairement arrondies varient considérablement d'un fruit à un autre. C'est dire l'intérêt qu'il y a à valoriser les déchets issus des transformations agroalimentaires constitués le plus souvent de la peau et des pépins et/ou noyaux. À titre d'exemple, de toutes les variétés de figues étudiées, les noires ont un IH de huit, soit, dans certains cas, huit fois plus élevées que dans les autres variétés de figues. Nous comprenons mieux pourquoi dans la région de Kabylie, la consommation de figues noires trempées dans l'huile d'olive est généralement admise comme diète.

## Conclusion

Des résultats obtenus, il ressort une grande variabilité dans les AA parmi les espèces et au sein du même fruit. Le coupage de quelques extraits de pelures a par ailleurs toujours généré un ES dans l'expression de l'AA. L'étude a aussi mis en évidence la possibilité pour les fruits sauvages de même que pour les pelures et les pépins de constituer une source inestimable en composants antioxydants, accessibles pour un plus grand nombre de consommateurs. Pour mieux rendre compte de la présence, de la disponibilité et de la contribution des substances antioxydantes présentes dans les plantes, l'étude devrait être élargie à l'usage des autres solvants et à la caractérisation qualitative et quantitative des substances à potentiel antioxydant avéré (vitamine C,  $\beta$ -carotène, polyphénols...).

## Bibliographie

- Ahn J, Grun IU, Mustapha A (2007) Effects of plant extracts on microbial growth, color change, and lipid oxidation in cooked beef. *Food Microbiol* 24: 7–14
- Alarcão-E-Silva MLCMM, Leitao AEB, Azinheira HG, et al (2001) The Arbutus berry: Studies on its color and chemical characteristics at two mature stages. *J Food Compos Anal* 14: 27–35
- Al-Farsi M, Alasalvar C, Morris A, et al (2005) Compositional and sensory characteristics of three native sun-dried date (*Phoenix dactylifera* L.) Varieties Grown in Oman. *J Agr Food Chem* 53: 7586–91
- Amarowicz R, Zegarska Z, Pegg RB, et al (2007) Antioxidant and radical scavenging activities of a barley crude extract and its fraction. *Czech J Food Sci* 25: 73–80
- Ambé GA (2001) Les fruits sauvages comestibles des savanes guinéennes de Côte-d'Ivoire : état de la connaissance par une population locale, les Malinké. *Biotechnol Agron Soc Environ* 5(1): 43–58
- Bagchi D, Bagchi M, Stohs SJ, et al (2000) Free radicals and grape seed proanthocyanidin extract: importance in human health and disease prevention. *Toxicol* 148(2): 87–9
- Benchehah AC, Maka M (2008) Les dattes: intérêt en nutrition. *Phytothérapie* 6: 117–21
- Biglari F, AlKarkhi AFM, Easa AM (2008) Antioxidant activity and phenolic content of various date palms (*Phoenix dactylifera*) fruits from Iran. *Food Chem* 107: 1636–41
- Blázovics A, Lugasi A, Szentmihályi K, et al (2003) Reducing power of the natural polyphenols of *sempervivum tectorum* in vitro and in vivo. *Acta Biol Szeged* 47 (1–4): 99–102
- Bravo L (1998) Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. *Nutr Rev* 56: 317–33
- Chen HY, Yen GC (2007) Antioxidant activity and free radical scavenging capacity of extracts from guava (*Psidium guajava* L.) leaves. *Food Chem* 101: 686–94
- Dauchet L, Amouyel PH, Dallongeville J (2005) Consommation de fruits et légumes et risque d'accident vasculaire cérébral et cardiaque : méta-analyse des études épidémiologiques prospectives. *Cah Nutr Diet* 40(1): 31–40
- Gao L, Mazza G (1995) Characterization, quantitation, and distribution of anthocyanins and colourless phenolics in sweet cherries. *J Agr Food Chem* 43: 343–46
- Guo C, Yang J, Wei J, et al (2003) Antioxidant activities of peel, pulp, and seed fractions of common fruits as determined by FRAP assay. *Nutr Res* 23: 1719–26
- Hinneberg I, Dorman D HJ, Hiltunen R (2006) Antioxidant activities of extracts from selected culinary herbs and spices. *Food Chem* 97: 122–9
- Iwahashi H (2000) Some polyphenols inhibit the formation of pentyl radical and octanoic acid radical in the reaction mixture of linoleic acid hydroperoxide with ferrous ions. *Biochem* 346: 265–73
- Koyuncu F (2004) Morphological and agronomical characterization of native black mulberry (*Morus nigra* L.) in Sutçuler, Turkey. *IPGRI News Lett* 138: 32–5
- Mansouri A, Embarek G, Kokkalou E, et al (2005) Phenolic profile and antioxidant activity of the Algerian ripe date palm fruit (*Phoenix dactylifera*). *Food Chem* 89: 411–20
- Mazza G, Kay CD, Cottrell T, et al (2002) Absorption of anthocyanins from blueberries and serum antioxidant status in human subjects. *J Agr Food Chem* 50: 7731–7
- Oyaizu M (1986) Studies on products of browning reaction: antioxidative activity of products of browning reaction. *Jpn J Nutr* 44: 307–15
- Peyrat-Maillard MN, Cuvelier ME, Berset C (2003) Antioxidant activity of phenolic compounds in 2,2'-Azobis (2-amidinopropane) dihydrochloride (AAPH)-Induced oxidation: synergistic and antagonistic effects. *JAOCS* 10(80): 1007–12
- Pincemail J, Defraigne JO (2004) Les antioxydants : un vaste réseau de défenses pour lutter contre les effets toxiques de l'oxygène. Symposium « antioxydants et alimentation », Institut Danone, Bruxelles, 23 octobre 2004
- Rice-Evans CA, Miller NJ, Paganga G (1996) Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Radical Bio Med* 20: 933–56
- Scalzo J, Politi A, Pellegrini N, et al (2005) Plant genotype affects total antioxidant capacity and phenolic contents in fruit. *Nutr* 21: 207–13
- Singh RP, Murthy KNC, Jayaprakasha GK (2002) Studies on the antioxidant activity of pomegranate peel and seed extracts using in vitro models. *J Agr Food Chem* 50: 81–6
- Yildirim A, Mavi A, Kara A (2001) Determination of antioxidant and antimicrobial activities of *Rumex crispus* L. extracts. *J Agr Food Chem* 49: 4083–89